

Rec'd PCT/PTO 24 MAR 2005
PCT/KR 03/02081
PCT/KR 09 10 2003
10/529169

REC'D 27 OCT 2003
WIPO PCT



별첨 사본은 아래 출원의 원본과 동일함을 증명함.

This is to certify that the following application annexed hereto
is a true copy from the records of the Korean Intellectual
Property Office.

출원번호 : 10-2002-0061589
Application Number

출원년월일 : 2002년 10월 09일
Date of Application OCT 09, 2002

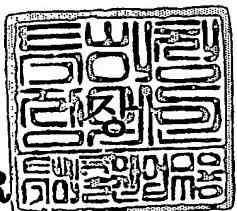
출원인 : (주)씨아이디
Applicant(s) CID co., Ltd.

PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)

2003 년 10 월 09 일



특허청
COMMISSIONER



20061589

출력 일자: 2003/10/17

【서지사항】

【서류명】	출원인 변경 신고서
【수신처】	특허청장
【제출일자】	2003.06.28
【구명의인(양도인)】	
【성명】	이영민
【출원인코드】	4-2002-037468-5
【사건과의 관계】	출원인
【신명의인(양수인)】	
【명칭】	(주)씨아이디
【출원인코드】	1-2003-024813-1
【대리인】	
【성명】	이원희
【대리인코드】	9-1998-000385-9
【포괄위임등록번호】	2002-075574-2
【포괄위임등록번호】	2003-045068-9
【사건의 표시】	
【출원번호】	10-2002-0061589
【출원일자】	2002.10.09
【심사청구일자】	2002.10.09
【발명의 명칭】	일본뇌염 바이러스의 신규한 전체-길이의 게놈 RNA 및 상기 JEV 게놈 RNA에 대한 감염성이 있는 JEV cDNA
【변경원인】	전부양도
【취지】	특허법 제38조제4항·실용신안법 제20조·의장법 제24조 및 상표법 제12조 제1항의 규정에 의하여 위와 같이 신고합니다. 대리인 이원희 (인)
【수수료】	13,000 원
【첨부서류】	1. 양도증_1통 2. 인감증명서_1통

【서지사항】

【서류명】	특허출원서
【권리구분】	특허
【수신처】	특허청장
【제출일자】	2002.10.09
【발명의 명칭】	일본뇌염 바이러스의 신규한 전체-길이의 게놈 RNA 및 상기 JEV 게놈 RNA에 대한 감염성이 있는 JEV cDNA
【발명의 영문명칭】	Novel full-length genomic RNA for Japanese encephalitis virus and infectious JEV cDNA therefrom
【출원인】	
【성명】	이영민
【출원인코드】	4-2002-037468-5
【대리인】	
【성명】	이원희
【대리인코드】	9-1998-000385-9
【포괄위임등록번호】	2002-075574-2
【발명자】	
【성명】	이영민
【출원인코드】	4-2002-037468-5
【발명자】	
【성명의 국문표기】	윤상임
【성명의 영문표기】	YUN, Sang-Im
【주민등록번호】	770825-2382711
【우편번호】	376-881
【주소】	충청북도 보은군 수한면 성리 90-17
【국적】	KR
【심사청구】	청구
【미생물기탁】	
【기탁기관명】	한국생명공학연구소 유전자은행
【수탁번호】	KCTC 10346BP
【수탁일자】	2002.10.02
【미생물기탁】	
【기탁기관명】	한국생명공학연구소 유전자은행
【수탁번호】	KCTC 10347BP

1020 1589

출력 일자: 2003/10/17

【수탁일자】 2002.10.02

【핵산영기 및 아미노산 서열목록】

【서열개수】 48

【서열목록의 전자파일】 첨부

【취지】 특허법 제42조의 규정에 의한 출원, 특허법 제60조의 규정에 의한 출원심사 를 청구합니다. 대리인
이원희 (인)

【수수료】

【기본출원료】 20 면 29,000 원

【가산출원료】 176 면 176,000 원

【우선권주장료】 0 건 0 원

【심사청구료】 27 항 973,000 원

【합계】 1,178,000 원

【감면사유】 개인 (70%감면)

【감면후 수수료】 353,400 원

【첨부서류】 1. 요약서·명세서(도면)_1통 2. 미생물기탁증명서_2통

【요약서】

【요약】

본 발명은 일본뇌염 바이러스(Japanese encephalitis virus, JEV)의 신규한 게놈 RNA 및 상기 JEV 게놈 RNA에 대한 감염성이 있는 JEV cDNA(infectious JEV cDNA)에 관한 것으로서, 보다 상세하게는 서열번호 15로 기재되는 전체-길이(full-length)의 JEV 게놈 RNA 및 상기 JEV 게놈 RNA에 대한 감염성이 있는 JEV cDNA에 관한 것이다. 본 발명의 JEV 게놈 RNA 및 JEV 게놈 RNA에 대한 감염성이 있는 cDNA는 JEV 유전자를 동정하는 것뿐만 아니라, JEV의 복제(replication), 전사(transcription) 및 번역(translation)에 관련된 분자생물학적인 메카니즘의 연구에 사용될 수 있으며, 또한 일본 뇌염의 치료제, 치료용 또는 예방용 백신, 진단시약 및 진단용 기구 등의 개발에도 유용하게 사용될 수 있고, 아울러 이형 유전자의 발현 벡터로 사용될 수 있다.

【대표도】

도 3

【명세서】**【발명의 명칭】**

일본뇌염 바이러스의 신규한 전체-길이의 게놈 RNA 및 상기 JEV 게놈 RNA에 대한
감염성이 있는 JEV cDNA {Novel full-length genomic RNA for Japanese encephalitis
virus and infectious JEV cDNA therefrom}

【도면의 간단한 설명】

도 1은 일본뇌염 바이러스의 한국분리주 K87P39과 이로부터 분리된 큰 플라크를 형성하
는 JEV 분리체(large-plaque forming JEV isolate) CNU/LP2을 비교한 것으로서, JEV에
mock-infected BHK-21 세포(Mock-infected), 혼합된 다양한 크기의 플라크들을 나타내는 JEV
K87P39 한국분리주에 감염된 BHK-21 세포(K87P39-infected), 및 일정한 큰 플라크들을 나타내
는 CNU/LP2에 감염된 BHK-21 세포(CNU/LP2-infected)에 대한 플라크 분석 결과(A), Vero 세포
를 사용한 경우의 플라크 분석 결과(B) 및 염색된 JEV-특이적 단백질들(녹색형광)과 프로피디
움 아이오다인(propidium iodine, 적색형광)으로 염색된 세포의 핵을 공초점현미경(confocal
microscopy)으로 보여주는 사진으로, mock-infected BHK-21 세포 및 K87P39, CNU/LP2, 황열병
바이러스 YF17D(yellow fever virus 17D)에 감염된 BHK-21 세포를 보여주는 사진이다(C).

도 2의 A는 JEV의 5'-말단과 3'-말단을 제외한 전체 JEV 게놈 RNA를 나타내는 세 개의
증첩하는 cDNA 앰플리콘의 RT-PCR 증폭에 대한 개략도로써, RNA는 회색으로 cDNA는 검정색 평
행선으로 나타내고, CNU/LP2 JEV 게놈 RNA(전체길이: 10,968 base pairs)를 도식적으로 윗부분

에 그렸으며, 세 개의 중첩하는 cDNA인 JVf(nt 1-3,865), JVM(nt 3,266-8,170), 및 JVR(nt 7,565-10,893)는 아랫부분에 나타내었다.

도 2의 B는 CNU/LP2 JEV 게놈 RNA의 3'-말단의 염기서열을 분석하기 위한 개략도로써, 5'-말단이 인산화(phosphorylation)되고 동시에 3'-말단이 막힌(blocked) 올리고뉴클레오타이드 T(Oligo T)를 T4 RNA 접합효소(ligase)를 사용하여 JEV 게놈 RNA의 3'-말단과 접합시킨 것이며, 접합된 RNA는 화살표로 표시된 프라이머를 사용하여 cDNA 합성과 PCR 증폭을 실시하였고, 증폭된 산물은 클로닝되어지고 염기서열을 밝히는 데 사용된다.

도 2의 C는 상기 JEV 게놈 RNA로부터 합성된 JEV-특이적 앰플리콘(amplicon)을 보여주는 전기영동 사진으로써, 첫째 사슬 cDNA는 올리고 T와 상보적 결합을 하는 올리고뉴클레오타이드 TR(oligonucleotide TR)를 사용하여 합성하였고 역전사반응은 Superscript II 역전사 효소를 첨가하거나(lane 1) 또는 첨가하지 않고(lane 2) 수행하였으며, 합성된 cDNA는 올리고뉴클레오타이드 TR과 프라이머 J35를 사용하여 증폭한 후 증폭된 JEV-특이적 앰플리콘은 1.2% 아гар로스 젤(agarose gel)상에서 분리하여 EtBr(ethidium bromide)로 염색하였다.

도 2의 D는 CNU/LP2 JEV 게놈 RNA의 5'-말단의 염기서열을 분석하기 위한 개략도로써, JEV 게놈 RNA의 5'-말단에 있는 캡(cap) 구조를 먼저 TAP(tobacco acid pyrophosphatase) 효소로 제거한 다음 T4 RNA 접합효소로 자가-접합을 실행한 후 cDNA 합성과 PCR 증폭에 사용되며, 증폭된 산물은 클로닝되어지고 염기서열을 밝히는 데 사용된다.

도 2의 E는 상기 JEV 게놈 RNA로부터 합성된 JEV-특이적 앰플리콘을 보여주는 전기영동 사진으로써, 첫째 사슬 cDNA는 nt 215-232와 상보적 결합을 하는 프라이머를 사용하여 합성하였으며, 역전사반응은 역전사 효소를 첨가하거나(lane 1) 또는 첨가하지 않고(lane 2) 수행하였다. 합성된 cDNA는 프라이머 J35와 nt 164-181과 상보적 결합을 하는 프라이머 J39를 사용하여 증폭하였으며, 증폭된 JEV-특이적 앰플리콘은 1.2% 아가로스 젤 상에서 분리하여 EtBr로 염색하였으며, 이때 M은 100 bp DNA 사다리 마커(ladder marker)로써 염기쌍으로 나타내었다.

도 3의 A는 세균 인공 염색체(bacterial artificial chromosome)인 pBeloBAC11에 전체-길이의 JEV cDNA를 클로닝하기 위한 개략도를 보여주는 것으로, 본 발명에서 합성된 전체-길이의 JEV cDNA를 cDNA의 양쪽 말단에 짙은 줄로 표시된 JEV 게놈의 5' NTR 및 3'NTR과 바이러스의 단백질로 도식화하여 모식도로 나타내었고, 5'-말단의 SP6 및 T7 프로모터의 전사 시작부위(transcription start)와 3'-말단의 런-오프 전사(run-off transcription)를 위한 유일한 제한효소자리를 각각 나타내었다.

도 3의 B는 JEV 게놈 RNA의 뉴클레오타이드 염기서열은 짙은 소문자의 이텔릭체로 나타내었으며, 4개의 SP6-유도된(SP6-driven) 전체-길이 JEV cDNA 주형의 5'-말단 및 3'-말단 염기서열을 나타내며, 도 3의 C는 4개의 T7-유도된(T7-driven) 전체-길이 JEV cDNA 주형의 5'-말단 및 3'-말단 염기서열을 나타낸다. SP6 또는 T7 RNA 폴리머라아제 런-오프 전사체를 합성하기 위해서 두 개의 SP6-유도된 (B, pBAC^{SP6}/JVFL/XbaI와 pBAC^{SP6}/JVFLx/XbaI)과 두 개의 T7-유도된 (C, pBAC^{T7}/JVFL/XbaI와 pBAC^{T7}/JVFLx/XbaI) JEV cDNA 주형은 XbaI 처리하여 바이러스와 연관되지 않은 3개의 CGA 뉴클레오타이드를 3'-말단에 선형화시킨다. 한 개의 SP6-유도된 (B, pBAC^{SP6}/JVFLx/XbaI) 및 한 개의 T7-유도된 (C, pBAC^{T7}/JVFLx/XbaI) JEV cDNA 주형은 XbaI 처리하여 바이러스와 연관되지 않은 4개의 CTAG 뉴클레오타이드를 3'-말단에 선형화시킨다. 또

한, *Xba*I-처리된 SP6-유도된 pBAC^{SP6}/JVFLx/*Xba*I과 *Xba*I-처리된 T7-유도된 pBAC^{T7}/JVFLx/*Xba*I의 JEV cDNA 3'-말단에 추가된 바이러스와 연관되지 않은 4개의 CTAG 뉴클레오타이드는 녹두 뉴클레아제(mung bean nuclease, MBN)에 의해서 제거됨으로써 pBAC^{SP6}/JVFLx/*Xba*I^{MBN}과 pBAC^{T7}/JVFLx/*Xba*I^{MBN} cDNA 주형을 생산한다.

도 4는 본 발명에서 합성된 전체-길이의 JEV cDNA 주형 단독으로는 감염성이 없으나, 시험관내 전사과정을 통해서 감염성이 있는 RNA의 제조를 위해서는 상기 cDNA가 반드시 필요하다는 사실을 보여주는 것으로써, 시험관내 전사과정에 사용된 전체-길이의 JEV cDNA 주형과 이로부터 전사된 합성 RNA를 나타내는 전기영동 사진(A) 및 사용된 전체-길이 JEV cDNA 주형과 전사된 합성 RNA를 함께 BHK-21 세포에 형질전환(transfection)시켰을 때 얻어진 감염성정도를 나타내는 그래프(B)이다.

도 5는 감염성이 있는 JEV cDNA에서 합성된 JEV 바이러스(synthetic JEV)와 모 바이러스(parental virus) CNU/LP2를 비교한 것으로서, 합성된 JEV 및 모 바이러스 CNU/LP2의 플라크 분석 사진(A), 합성된 JEV 및 모 바이러스 CNU/LP2로 감염된 BHK-21 세포에서 생성되는 바이러스의 성장 동역학(growth kinetics)을 보여주는 그래프(B), 면역블롯(immunoblot)에 의한 바이러스 단백질의 발현정도(C), 및 노던 블롯(northern blot)에 의한 바이러스 RNA의 발현정도(D)를 보여주는 전기영동 사진이다.

도 6은 pBAC^{SP6}/JVFLx/gm/XbaI 유래의 재조합된 JEV(recombinant JEV)에 존재하는 *XbaI* 유전자 마커(genetic marker)의 존재를 보여주는 것으로써, pBAC^{SP6}/JVFLx/XbaI^{MBN} 및 *XbaI* 유전자 마커가 엔지니어링된 pBAC^{SP6}/JVFLx/gm/XbaI^{MBN}으로부터 합성된 RNA 전사체로 형질전환된 BHK-21 세포에서 JVFLx/XbaI^{MBN} JEV 바이러스 및 재조합된 JEV 바이러스 JVFLx/gm/XbaI^{MBN}를 생성한다. 생성된 바이러스를 BHK-21 세포에 계대배양하여 계대배양 1과 계대배양 3의 재조합된 JEV JVFLx/gm/XbaI^{MBN}를 얻었다. 얻어진 JEV 계놈 RNA를 화살표로 표시된 프라이머를 사용하여 RT-PCR을 수행한 결과, 얻어지는 JEV-특이적 앰플리콘의 크기(2,580 bp)와 이를 *XbaI*으로 절단했을 때 얻어지는 절편의 크기(1,506 bp와 1,074 bp)를 나타낸 개략도(A), 및 상기 JVFLx/XbaI^{MBN} 및 재조합된 JEV JVFLx/gm/XbaI^{MBN} 계놈 RNA로부터 합성된 JEV-특이적 앰플리콘과 이를 *XbaI*으로 절단했을 때 얻어지는 절편을 보여주는 전기영동 사진(B)이다.

도 7은 180 세대동안 유지되는 감염성이 있는 JEV cDNA 클론 pBAC^{SP6}/JVFLx/XbaI으로부터 전사된 합성 RNA의 감염성 정도를 보여주는 그래프이다.

도 8은 JEV cDNA를 벡터로 사용하여 이형 단백질을 발현하는 것을 보여주는 것으로서, SP6 RNA 중합효소를 이용한 런-오프 전사에 사용된 본 발명의 cDNA 주형에 대한 개략도(A), GFP 단백질의 발현을 보여주는 동초점 현미경 사진(B) 및 LUC 단백질의 유도를 보여주는 그래프(C)이다.

【발명의 상세한 설명】**【발명의 목적】****【발명이 속하는 기술분야 및 그 분야의 종래기술】**

- <14> 본 발명은 일본뇌염 바이러스(Japanese encephalitis virus, 이하 'JEV'라 약칭함)의 신규한 게놈 RNA 및 상기 JEV 게놈 RNA에 대한 감염성이 있는 JEV cDNA에 관한 것으로서, 보다 상세하게는 서열번호 15로 기재되는 전체-길이(full-length)의 JEV 게놈 RNA 및 상기 JEV 게놈 RNA에 대한 감염성이 있는 JEV cDNA에 관한 것이다.
- <15> JEV는 플라비비리대(Flaviviridae) 패밀리에 속하는 RNA 바이러스의 일원으로써 모기에 의해서 전파된다. JEV는 인간, 특히 어린이에게 영구적인 신경정신질환(neuropsychiatric sequelae)을 야기시키고 심지어는 사망을 일으키는 중요한 병원성바이러스로 알려져 있다 (Tsai, *Vaccine*, 2000, 18(Suppl 2), 1-25; Solomon, *Neurological Infections and Epidemiology*, 1997, 2, 191-199; Umenai et al., *Bull. W.H.O.*, 1985, 63, 625-631). JEV 바이러스의 전파(transmission)는 최근 남반구(Southern Hemisphere)에서도 보고가 되었는데, 이것은 상기 JEV 바이러스가 전세계적으로 공중 보건을 위협할 수도 있음을 의미한다(Hanna, et al., *Med. J. Aust.*, 1999, 170, 533-536; Hanna, et al., *Med. J. Aust.*, 1996, 165, 256-260; Mackenzie et al., *Arch. Virol.*, 1994, 136, 447-467).
- <16> JEV는 단일가닥(single-stranded)의 작은-껍질(small-enveloped) 바이러스이며 약 11 kb 길이의 양성-센스(positive-sense) RNA 게놈을 가지고 있다. 게놈은 하나의 긴 전사해독틀(open reading frame, 이하 'ORF'라 약칭함)을 가지고 있으며, ORF의 양쪽 끝 부위에 바이러스

의 자가복제에 중요한 역할을 하는 시스-작용성(*cis*-acting) 인자들을 가진 5' 및 3' 비번역부위(nontranslated region, NTR)로 구성되어 있다. JEV의 RNA 계놈은 5'-말단에 타입 I 캡(cap) 구조를 가지고 있으나, 3'-말단에 폴리(A) 꼬리 구조는 가지고 있지 않다. ORF는 하나의 큰 다중단백질(polyprotein)로 번역되며, 이것은 동시(co)- 또는 후(post)-번역적으로 프로세스 되어서 세 개의 구조단백질과 일곱 개의 비구조 단백질이 생산된다. 상기 유전자들은 JEV RNA 계놈상에서 C-prM-E-NS1-NS2A-NS2B-NS3-NS4A-NS4B-NS5와 같은 배열을 가진다 (Lindenbach and Rice, *Flaviviridae: The viruses and their replication*, 2001, 991-1041, Lippincott Williams&Wilkins Publishers; Venugopal and Gould, *Vaccine*, 1994, 12, 966-975; Chamber et al., *Ann. Rev. Microbiol.*, 1990, 44, 649-688). JEV 바이러스 유전자산물의 기능, JEV의 자가복제, 신경침입성(neurovirulence), 및 병원성(pathogenesis)에 관여하는 분자생물학적인 메카니즘과 같은 내용들은 현재까지 잘 알려져 있지 않은데, 가장 큰 이유는 신뢰할 수 있는 역상 유전자 시스템(reverse genetics system)이 존재하지 않기 때문이다.

<17> 양성-센스 RNA 바이러스에 대한 연구는 역상 유전자 시스템의 개발과 더불어 급속도로 발전되어 왔으며, 역상 유전자 시스템에는 RNA-론치(RNA-launched) 접근방식과 DNA-론치(DNA-launched) 접근방식이 있다. 역상 유전자 시스템은 관심있는 바이러스 계놈 RNA에 대해서 감염성이 있는 cDNA 클론을 제조한 후, 상기 감염성이 있는 cDNA를 주형으로 하여 RNA 전사체를 만들고, 상기 감염성이 있는 RNA 전사체로부터 합성된 바이러스(synthetic virus)를 생산하는 시스템이다.

- <18> 전통적인 "RNA-론치(RNA-launched)" 접근방법에서는, 세포들이 감염성이 있는 cDNA 클론으로부터 합성된 RNA 전사체로 형질전환(transfection)되며, 상기 세포들로부터 합성된 바이러스(synthetic virus)가 회수된다(Satyanarayana et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1999, 96, 7433-7438; van Dinten et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1997, 94, 991-996; Liljestrom and Garoff, *Biotechnology*, 1991, 9, 1356-1361; Rice et al., *New Biol.*, 1989, 1, 285-296, Rice et al., *J. Virol.*, 1987, 61, 3809-3819).
- <19> 또한, "DNA-론치(DNA-launched)" 접근방법에서는 감염성이 있는 cDNA 클론을 수용 세포(susceptible cell)에 직접 형질전환시킴으로써 합성된 바이러스를 제조한다. 상기 방법은 최초로 폴리오바이러스에 대하여 적용된 것으로(Racaniello and Baltimore, *Science*, 1981, 214, 916-919), 알파바이러스(alphavirus)에 대하여도 적용이 되었다(Schlesinger and Dubensky, *Curr. Opin. Biotechnol.*, 1999, 10, 434-439).
- <20> 상기 두 가지 접근방법은 가장 큰 RNA 계음을 가지고 있는 코로나바이러스(coronavirus)(Almazan et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2000, 97, 5516-5521)를 포함하여 많은 양성-센스 RNA 바이러스 패밀리에 대하여 감염성이 있는 cDNA 클론을 제조하기 위하여 사용되어 왔다. 상기 감염성이 있는 cDNA 클론들은 양성-센스 RNA 바이러스에 대한 많은 의문점들을 해결하는데 중요하게 사용되어 왔다.
- <21> 그러나, 일본뇌염 바이러스에 대해서는 아직까지 역상 유전자 시스템이 구축되지 못하였고, 이에 따라 JEV에 대한 연구는 진척되지 못하고 있다. 이는 전체-길이(full-length)의 감염성이 있는 cDNA 클론의 구축이 성공하지 못하였기 때문인데, 가장 큰 이유는 클론된 cDNA의 유전학적인 불안정성에 기인한다. 결국 많은 연구 노력에도 불구하고 현재까지 JEV에 대한 유전학적으로 안정한 전체-길이의 감염성이 있는 cDNA 분자클론(molecular clone)은 합성이 되지

못한 실정이다(Mishin et al., *Virus Res.*, 2001, 81, 113-123; Zhang et al., , 2001, 96, 171-182; Sumiyoshi et al., *J. Infect. Dis.*, 1995, 171, 1144-1151; Sumiyoshi et al., *J. Virol.*, 1992, 66, 5425-5431).

<22> 이에, 본 발명자들은 한국에 존재하는 야생 모기로부터 분리한 한국형(Korean isolate) JEV를 사용하여 바이러스 게놈 RNA의 완전한(authentic) 전체-길이 뉴클레오파이드 염기서열을 정확하게 밝히고, 상기 JEV 게놈 RNA에 대한 전체-길이의 감염성이 있는 cDNA를 합성함으로써 역상 유전자 시스템을 개발하였다. 이렇게 개발된 상기 감염성이 있는 JEV cDNA를 이용한 역상 유전자 시스템은 JEV 유전자 산물에 대한 기능, JEV의 자가복제, 신경침입성, 및 병원성에 관여하는 분자생물학적인 메카니즘을 밝히는데 유용하게 사용될 수 있으며, 또한 상기 감염성이 있는 JEV cDNA를 이형 유전자의 발현을 위한 벡터로 유용하게 사용할 수 있음을 밝힘으로써 본 발명을 완성하였다.

【발명이 이루고자 하는 기술적 과제】

<23> 본 발명의 목적은 일본뇌염 바이러스의 신규한 게놈 RNA, 상기 게놈 RNA에 대한 감염성이 있는 cDNA, 및 상기 cDNA를 이용하여 제조되는 새로운 유전자 발현 벡터를 제공하는 것이다.

【발명의 구성 및 작용】

<24> 상기 목적을 달성하기 위하여,

- <25> 1) 본 발명은 JEV 바이러스의 신규한 게놈 RNA를 제공한다.
- <26> 2) 본 발명은 자가복제를 할 수 있는 JEV RNA 전사체를 생산할 수 있는 감염성이 있는 JEV cDNA를 제공한다.
- <27> 3) 본 발명은 상기 전체-길이 JEV 게놈 RNA에 대한 cDNA를 포함하는 벡터를 제공한다.
- <28> 4) 본 발명은 상기 JEV cDNA 벡터로부터 합성된 자가복제할 수 있는 RNA 전사체를 제공한다.
- <29> 5) 본 발명은 상기 JEV cDNA 벡터로부터 합성된 RNA 전사체로 형질전환된 세포로부터 얻어진 재조합된 JEV 바이러스(recombinant JEV virus)를 제공한다.
- <30> 6) 본 발명은 상기 JEV cDNA를 포함하는 JEV 발현 벡터를 제공한다.
- <31> 7) 본 발명은 상기 JEV 발현ベク터를 이용하여 이형 유전자(heterologous gene)를 발현시키는 방법을 제공한다.
- <32> 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.
- <33> I. 본 발명은 JEV 바이러스의 신규한 게놈 RNA를 제공한다.
- <34> 본 발명의 한국형 JEV 게놈 RNA는 5'-비번역 부위, 폴리펩타이드 코딩 부위, 및 3'-비번역 부위로 구성된다.
- <35> 상기에서, 게놈 RNA의 전체 길이는 10,968 bp이며, 95 bp로 이루어진 5'-비번역 부위, 10,299 bp로 이루어진 폴리펩타이드 코딩 부위, 및 574 bp로 이루어진 3'-비번역 부위로 구성되어 있다.

- <36> 본 발명의 바람직한 실시예에 따르면, 본 발명의 JEV 바이러스의 신규한 게놈 RNA는 서열번호 15로 기재되는 서열이다. 또한, 상기 서열번호 15로 기재되는 JEV 바이러스의 게놈 RNA와 98% 이상의 상동성이 있는 서열도 본 발명의 신규한 게놈 RNA에 포함된다.
- <37> 본 발명의 한국형 JEV 바이러스는 한국형 일본뇌염 바이러스인 JEV K87P39 바이러스로부터 플라크분리정제(plaque-purification) 기술을 이용하여 다시 분리 정제된 바이러스로서 "JEV CNU/LP2"라 명명하였다(도 1 참조).
- <38> 본 발명자들은 한국형 일본뇌염 바이러스인 JEV CNU/LP2 바이러스의 전체-길이 뉴클레오타이드 염기서열을 밝히기 위해서 긴 RT-PCR(long RT-PCR) 방법으로 바이러스의 5'-말단과 3'-말단을 제외한 나머지 부위를 세 개의 중첩되는 cDNA, JVf(nt 1-3865), JVM(nt 3266-8170), 및 JVR(nt 7565-10893) cDNA로 합성 및 증폭하여 각각 약 3.9 kbp(JVf), 약 4.9 kbp(JVM), 및 약 3.3 kbp(JVR)의 절편을 얻고 이에 대한 염기서열을 밝혔다(도 2의 A 참조).
- <39> 바이러스 게놈 RNA의 3'-말단의 정확한 염기서열을 밝히기 위해서는 먼저 올리고뉴클레오타이드 T를 CNU/LP2 게놈 RNA의 3'-말단에 접합(ligation)시켜야 하며(도 2의 B 참조), 이때 올리고뉴클레오타이드 T는 cDNA 합성과 증폭시 필요한 특이한 프라이머 바인딩 자리를 제공한다(도 2의 B 참조). 염기서열을 분석한 결과, JEV 바이러스의 전체 염기서열이 밝혀진 대부분의 분리주의 경우에서 보고된 바와 같이, 본 발명자들은 큰 삽입체(약 700 bp)를 가진 모든 클론들의 바이러스 게놈 RNA의 3'-말단이 -GATCT¹⁰⁹⁶⁸로 끝난다는 것을 발견하였다. 반면에, 작은 삽입체(약 450 bp)를 가진 모든 클론들은 바이러스 RNA 게놈의 염기서열 10,684번째에서

종결되어 큰 밴드보다 284 bp가 작아진 것을 알 수 있었다. 작은 삽입체의 경우 바이러스 게놈 RNA의 3'-말단에 284 뉴클레오타이드를 포함하고 있지 않기 때문에, 전체-길이의 JEV cDNA 결합(assembly) 과정 동안 본 발명자들은 큰 삽입체의 뉴클레오타이드 염기서열을 사용하였다.

<40> 바이러스 게놈 RNA의 5'-말단의 정확한 염기서열을 밝히기 위해서는 먼저 5'-말단에 존재하는 캡 구조를 제거하였으며, 캡 구조가 제거된 바이러스 게놈 RNA는 자가-접합(self-ligation)시킨 후 접합된 3'-5' 부위는 바이러스 3'-말단 근처의 염기서열(nt 10259-nt 10276)에 상보적으로 결합하는 양성-센스 프라이머와 바이러스 5'-말단 근처의 염기서열(nt 164-nt 181)에 상보적으로 결합하는 음성-센스 프라이머를 사용하여 첫 번째 사슬(first-strand) cDNA를 합성하고 PCR 증폭하였다(도 2의 D 참조). 아가로즈 젤을 이용한 전기 영동 결과, PCR로 증폭된 산물은 약 850 bp 크기의 단일 밴드로 나타났다(도 2의 E 참조). 이렇게 증폭된 앰플리콘들을 클로닝한 후, 무작위로 선별된 12개의 클론들의 염기서열을 분석한 결과, 12개의 모든 클론에서 바이러스 3'-말단 염기서열의 -GATCT¹⁰⁹⁶⁸ 다음에 5'-말단의 염기서열 ¹AGAAGT-가 연결되어 있는 것을 알 수 있었다(도 2의 B 및 도 2의 C 참조).

<41> 상기 결과로부터, 본 발명자들은

서열번호 15로 기재되는 JEV CNU/LP2 분리주(isolate)의 완전한 전체-길이의 뉴클레오파이드 염기서열을 밝혔다. JEV CNU/LP2 게놈 RNA의 전체 길이는 10,968 bp이며, 이것은 95 bp로 이루어진 5'-비번역 부위, 10,299 bp로 이루어진 폴리펩타이드 코딩 부위, 및 574 bp로 이루어진 3'-비번역 부위의 세 부위로 구성되어 있다. 상기 염기서열을 진뱅크(GenBank) 데이터베이스에서 염기서열이 모두 밝혀져 있는 공지된 26개의 JEV 바이러스 게놈 RNA(Ishikawa, K94P05, FU, CH2195LA, CH2195SA, RP-2ms, RP-9, CH1392, T1P1, YL, JaGAr01, HVI, TC, TL, Beijing-1, Ling, Vellore P20778, p3, SA14-14-2, SA(A), SA14-12-1-7, SA14-2-8, SA14, SA(V), GP78, 및 JaOArS982 바이러스주)의 전체-길이의 뉴클레오파이드 염기서열과 비교하였다. 비교분석에 사용된 바이러스주에 대한 분리지역, 분리연도, 출처, 및 진뱅크 접근번호(GenBank accession number)에 관한 정보를 하기에 요약하였다(표 1 참조).

【표 1】

위치	연도	균주	출처(source)	진뱅크 기탁번호
오스트레일리아	1995	FU	인간 혈청	AF217620
중국	1954	SA14	모기	U14163
		SA14-14-2	SA14 유도체	AF315119
		SA14-12-1-7	SA14 유도체	AF416457
		SA14-2-8	SA14 유도체	U15763
		SA(V)	SA14 유도체	D90194
		SA(A)	SA14-14-2 유도체	D90195
	1949	Beijing-1	인간의 뇌	L48961
인도	1949	P3	모기	U47032
	1978	GP78	인간의 뇌	AF075723
일본	1958	Vellore P20778	인간의 뇌	AF080251
	1982	Ja0 ArS982	모기	M18370
	IU	Ishikawa	IU	AB051292
	1959	JaG Ar01	모기	AF069076
한국	1994	K94P05	모기	AF045551
	1987	K87P39	모기	본 발명
대만	1997	T1P1	모기	AF254453
	1994	CH2195LA	CH2195 유도체	AF221499
	1994	CH2195SA	CH2195 유도체	AF221500
	1990	CH1392	모기	AF254452
	1985	RP-2ms	모기	AF014160
	1985	RP-9	모기	AF014161
	1965	Ling	인간의 뇌	L78128
	IU	YL	IU	AF486638
	IU	TC	모기	AF098736
	IU	TL	모기	AF098737
	IU	HVI	모기	AF098735

<43> IU : 정보가 없음

<44> JEV 전체-길이의 뉴클레오타이드 염기서열을 비교한 결과, CNU/LP2 JEV 바이러스는 각각 89.0%(Ishikawa), 89.1%(K94P05), 89.3%(FU), 95.8%(CH2195LA), 95.9%(CH2195SA), 97.1%(RP-2ms), 97.2%(RP-9), 97.3%(CH1392), 97.3%(T1P1), 97.0%(YL), 97.4%(JaGAr01), 97.1%(HVI), 96.9%(TC), 96.7%(TL), 96.4%(Beijing-1), 96.3%(Ling), 96.0%(Vellore P20778), 97.1%(p3), 97.4%(SA14-14-2), 97.5%(SA(A)), 97.5%(SA14-12-1-7), 97.7%(SA14-2-8),

97.9%(SA14), 97.9%(SA(V)), 96.3%(GP78), 및 97.1%(JaOArS982)의 상동성을 가진다(표 2 참조). 따라서, 본 발명의 서열번호 15로 기재되는 염기서열과 98% 이상의 상동성을 가지는 JEV 바이러스의 계놈 RNA의 염기서열은 본 발명의 권리범위에 속한다.

<45> 【표 2】

분리주	% 서열 상동성 ^a																											
	Ishikawa	K94P05	FU	CH219SLA	CH219SSA	RP-2m's	RP-9	CH1392	T1P1	YL	JGAr01	HM	TC	TL	Beijing-1	Ling	Vellore P20778	p3	SA14-14-2	SA(A)	SA14-14-7	SA14-2-8	SA14	SA(V)	K87P39	GP78	JaOArS982	WNV
Ishikawa	97.0	90.1	88.3	88.3	88.9	89.0	89.1	88.9	89.2	89.0	88.9	88.8	88.8	88.8	88.9	89.1	88.8	88.9	88.9	88.9	89.1	89.2	89.2	89.0	88.8	88.9	69.0	
K94P05	97.7	88.6	88.6	88.6	89.2	89.3	89.4	89.4	89.1	89.5	89.2	89.1	89.0	89.0	89.0	88.9	89.4	89.1	89.2	89.2	89.3	89.5	89.5	89.1	89.0	89.5	68.7	
FU	97.7	97.0	88.9	88.9	89.3	89.4	89.4	89.4	89.2	89.6	89.4	89.2	89.1	89.3	89.0	89.1	89.4	89.1	89.2	89.2	89.3	89.6	89.6	89.3	88.7	89.4	69.5	
CH219SLA	97.7	97.0	89.9	89.9	96.2	96.3	96.3	96.3	96.1	96.5	98.2	85.9	95.8	95.8	95.7	95.1	86.3	96.6	96.7	96.8	97.1	97.1	95.8	95.7	97.3	69.4		
CH219SSA	97.1	96.5	89.0	89.0	96.3	98.3	98.3	98.3	96.1	96.5	96.2	85.9	95.8	95.8	95.7	95.1	88.3	95.6	95.7	96.7	96.9	97.1	95.9	95.7	97.3	69.5		
RP-2m's	97.5	96.8	89.4	89.4	98.8	89.9	89.5	89.5	89.3	99.3	99.4	98.8	98.2	98.1	97.2	97.1	96.6	97.9	88.0	88.1	98.1	98.3	98.5	98.5	97.1	96.9	97.7	69.4
RP-9	97.6	96.9	99.5	99.5	98.9	98.9	99.7	99.6	99.5	99.3	99.5	98.8	98.2	98.2	97.2	97.2	96.7	98.0	98.1	98.1	98.1	98.3	98.5	98.5	97.2	96.9	97.8	69.4
CH1392	97.8	97.2	89.7	89.7	99.1	99.6	99.7	99.9	99.5	99.7	99.0	98.3	98.3	97.3	97.3	96.8	98.2	98.2	98.3	98.4	98.6	98.7	97.3	97.0	97.9	69.4		
T1P1	97.5	86.8	99.3	99.3	98.7	99.1	99.2	99.4	99.5	99.7	89.0	88.3	88.3	87.3	87.3	96.8	98.1	88.2	98.2	98.3	98.4	98.6	98.6	97.3	97.0	97.8	69.4	
YL	97.4	96.7	99.2	99.2	98.7	99.1	99.2	99.4	99.0	99.4	98.8	98.1	98.0	97.1	97.1	96.5	97.9	98.0	98.0	98.2	98.4	98.4	97.0	96.8	97.6	69.2		
JaGAr01	97.1	96.4	88.9	88.9	98.2	88.7	88.8	89.1	88.6	88.7	89.1	98.4	98.4	97.4	97.4	96.9	98.3	88.4	98.4	98.5	98.8	97.8	97.4	97.1	98.0	69.5		
HM	97.2	96.5	98.9	98.9	98.3	98.8	98.9	99.1	98.7	98.8	98.7	88.6	98.4	97.2	97.2	96.7	98.1	98.1	98.1	98.3	98.5	98.5	97.1	96.9	97.7	69.4		
TC	97.0	96.4	98.8	98.8	88.2	88.7	88.7	88.8	89.0	88.5	88.5	98.2	98.4	89.0	97.2	97.1	96.4	98.4	97.7	97.8	98.1	98.3	98.3	96.9	96.7	97.4	69.5	
TL	97.2	96.6	89.0	89.0	88.4	88.9	88.9	89.2	88.8	88.7	88.4	98.5	89.7	97.0	96.8	96.1	97.5	97.8	97.7	97.7	97.9	98.1	98.1	96.7	96.5	97.2	69.3	
Beijing-1	97.3	96.6	89.0	89.0	88.5	98.8	98.9	89.0	89.2	98.8	98.7	98.4	98.6	89.2	99.3	99.1	96.7	97.4	97.2	97.3	97.5	97.6	97.6	95.4	96.1	97.0	69.5	
Ling	97.4	98.7	99.1	89.1	88.6	99.0	99.1	89.3	88.9	88.8	98.6	98.7	89.0	99.2	99.2	86.7	97.3	97.1	97.2	97.2	97.4	97.6	97.6	96.3	96.2	97.2	69.5	
Vellore P20778	97.7	97.1	99.5	99.5	98.9	99.4	99.5	99.7	99.3	99.2	99.8	99.1	99.1	99.2	99.3	99.4	96.8	98.6	98.7	96.9	97.1	97.1	96.0	95.6	96.4	69.5		
p3	97.8	97.1	99.5	99.5	98.9	99.4	99.5	99.7	99.4	99.3	99.0	99.2	99.0	99.2	99.2	99.5	99.8	98.2	98.3	98.3	98.5	98.7	98.7	97.1	97.1	97.8	69.5	
SA14-14-2	97.9	97.1	99.5	99.5	98.9	99.3	99.4	99.7	99.2	99.2	98.9	99.0	98.8	99.0	99.1	99.2	99.6	99.6	99.8	99.6	99.4	99.4	97.4	97.3	98.1	69.4		
SA(A)	97.1	96.6	98.8	98.8	98.2	98.7	98.8	99.0	98.6	98.5	98.2	98.3	98.1	98.3	98.4	98.4	98.5	98.9	98.9	98.9	99.4	99.4	99.4	97.5	97.4	98.2	69.4	
SA14-14-1-7	97.2	96.6	98.9	98.9	88.3	88.7	88.9	98.9	99.1	98.7	98.6	98.4	98.4	88.5	88.5	98.6	99.0	99.0	98.9	99.7	99.4	99.5	99.5	97.5	97.4	98.2	69.4	
SA14-2-8	97.7	97.3	99.4	99.4	98.8	99.3	99.4	99.6	99.2	99.2	98.8	98.8	98.8	98.9	99.0	99.2	99.5	99.6	99.7	99.7	97.7	97.6	98.3	98.3	98.3	98.5	69.5	
SA14	97.5	96.7	99.0	89.0	88.4	88.9	99.0	99.0	99.2	98.9	98.8	98.7	98.4	88.5	88.6	88.7	99.1	99.2	99.2	99.5	98.5	99.2	99.9	97.9	97.8	98.6	69.8	
SA(V)	97.3	96.6	98.9	98.9	88.3	88.7	88.7	88.8	99.1	88.7	88.6	88.4	88.5	88.2	88.4	88.5	88.6	88.8	89.0	89.0	89.3	88.4	89.0	99.5	97.9	97.8	98.6	69.8
K87P39	97.4	95.7	98.8	98.9	98.2	98.7	98.8	99.1	98.6	98.6	98.2	98.4	98.4	98.5	98.6	98.6	98.9	99.0	99.0	98.4	98.4	98.4	99.0	98.6	98.5	98.3	97.1	69.5
GP78	97.0	96.4	98.8	98.6	98.0	98.5	98.6	88.8	98.5	98.4	98.0	98.1	88.0	98.2	98.3	98.3	98.7	98.7	98.7	98.1	98.2	98.2	98.2	98.2	98.2	97.2	69.6	
JaOArS982	97.6	96.8	97.8	97.8	97.2	97.7	97.8	98.0	97.8	97.2	97.3	97.1	97.1	97.4	97.5	97.9	97.9	98.0	97.3	97.4	97.8	97.4	97.5	97.1	97.1	97.1	69.6	
WNV	76.2	75.8	76.8	76.6	76.1	76.4	76.5	76.7	76.5	76.3	76.4	76.2	76.6	76.6	76.8	76.2	76.3	76.7	76.6	76.5	76.4	76.5	76.7	76.6	76.4	76.5	76.7	69.7

^a 완전한 계놈의 % 뉴클레오티드 서열 상동성은 오른쪽 위에 나타내었다. 완전한 계놈의 % 아미노산 상동성은 왼쪽 아래에 나타내었다.
K87P39와의 % 서열 상동성은 굵은 글씨로 나타내었다.

<46> 본 발명의 염기서열은 JEV 폴리펩타이드 코딩 부위 이외에도 바이러스의 자가복제, 전사, 및 번역을 조절하는 시스-작용성(

cis-acting) 인자들을 가지고 있는 5'-비번역 부위와 3'-비번역 부위의 정확한 염기서열을 분자생물학적 실험방법으로 밝혔다. 이는 몇몇 연구에서 5'-말단 및 3'-말단 부위 모두가 시험관내(You and Padmanabhan, *J. Biol. Chem.*, 1999, 274, 33714-33722) 및 생체내(Khromykh et al., *J. Virol.*, 2001, 75, 6719-6728) 플라비바이러스 RNA 복제의 개시에 요구된다는 것이 알려져 있기 때문에 매우 중요한 의미를 가진다. 특히, 본 발명에서 JEV CNU/LP2의 5'-말단 및 3'-말단의 염기서열로 밝혀진 $^1\text{AGAAGT}$ - 및 -GATCT¹⁰⁹⁶⁸ 은 바이러스의 자가복제에 중요한 역할을 할 것으로 생각된다.

<47> 본 발명은 상기에서 밝혀진 JEV의 완전한 전체-길이 염기서열을 가진 합성 RNA 전사체(synthetic RNA transcript)가 세포에 형질전환되었을 때, 감염성이 있는 합성된 JEV(synthetic JEV) 바이러스가 생산됨을 하기에서 실험적으로 증명함으로써, JEV가 자가복제 시 필요한 완전한(complete) 전체-길이의 염기서열을 기능적인 측면에서 세계 최초로 입증하였다.

<48> II. 본 발명은 자가복제를 할 수 있는 JEV RNA 전사체를 생산할 수 있는 감염성이 있는 JEV cDNA를 제공한다.

<49> 본 발명의 감염성이 있는 JEV cDNA는 서열번호 15로 기재되는 염기서열 또는 서열번호 15와 98% 이상의 상동성이 있는 전체-길이의 JEV 게놈 RNA의 염기서열을 토대로 합성되며, 시험관내 전사(*in vitro transcription*)를 통해서 자가복제를 할 수 있는 JEV RNA 전사체를 합성하는 데 주형(template)으로 사용된다. 본 발명

의 전체-길이의 JEV cDNA는 먼저 5'-말단 및 3'-말단을 포함하는 바이러스 게놈 RNA를 RT-PCR에 의하여 여러 개의 중첩하는 cDNA로 증폭시킨 후 이들을 연결함으로써 제조된다.

<50> 시험관내 런-오프(run-off) 전사 반응을 통해 전체-길이의 합성 JEV RNA 전사체를 생산하기 위해서 JEV 게놈 RNA의 5'-말단 바로 앞에 SP6 또는 T7 프로모터 염기서열부위를 포함하고, JEV 게놈 RNA의 3'-말단 바로 뒤에 런-오프 자리를 인위적으로 만들 수 있도록 바이러스 게놈 RNA에 존재하지 않는 유일한 제한효소 인식 염기서열을 포함한다(도 3의 A 참조). 본 발명에서는 바람직한 실시예로써 JEV 게놈 RNA에 해당하는 세 개의 중첩하는 cDNA(JVF, JVM 및 JVR), SP6 또는 T7 프로모터 염기서열을 포함한 5'-말단부위, 및 런-오프 자리로써 *Xba*I과 *Xba*I 인식염기서열를 포함한 3'-말단부위에 해당하는 두 개의 cDNA을 이용하여 3개의 SP6-유도된 (driven) 전체-길이 JEV cDNA 와 3개의 T7-유도된(driven) 전체-길이 JEV cDNA를 각각 제조하였다(도 3의 B와 도 3의 C 참조). 그러나, 상기 두 가지 프로모터 이외에도 다른 프로모터를 사용할 수 있음은 당업계에 종사하는 사람에게 있어서 자명하다. 또한, 본 발명에서 개발된 전체-길이 JEV cDNA는 런-오프 자리로써 *Xba*I과 *Xba*I를 사용하였지만, 이외에도 다른 제한효소를 사용할 수 있음은 당업계에 종사하는 사람에게 있어서 자명하다.

<51> 본 발명의 JEV cDNA는 BAC(bacterial artificial chromosome)인 pBeloBAC11 플라스미드를 벡터로 사용하여 상기와 같이 여러 개의 중첩하는 cDNA를 포함하는 서브클론(subclone)을 제조한 후 이들을 서로 연결함으로써 JEV cDNA를 제공한다.

<52> 본 발명자들은 바람직한 실시예에서 SP6 프로모터를 가지며 서열번호 43, 서열번호 44, 및 서열번호 45로 기재되는 JEV cDNA와 T7 프로모터를 가지며 각각 서열번호 46, 서열번호 47, 및 서열번호 48로 기재되는 JEV cDNA를 제공한다(도 3의 B 및 도 3의 C 참조).

<53> III. 본 발명은 상기 전체-길이 JEV 게놈 RNA에 대한 cDNA를 포함하는 벡터를 제공한다.

<54> 본 발명의 벡터는 상기 JEV 전체-길이의 감염성이 있는 cDNA를 포함하는 것을 특징으로 한다. 본 발명의 바람직한 실시예에서는 SP6 프로모터를 가지며 서열번호 43, 서열번호 44, 및 서열번호 45로 기재되는 JEV cDNA를 포함하는 pBAC^{SP6}/JVFL/*Xho*I, pBAC^{SP6}/JVFLx/*Xho*I, pBAC^{SP6}/JVFLx/*Xba*I 및 T7 프로모터를 가지며 서열번호 46, 서열번호 47, 및 서열번호 48로 기재되는 pBAC^{T7}/JVFL/*Xho*I, pBAC^{T7}/JVFLx/*Xho*I, pBAC^{T7}/JVFLx/*Xba*I 벡터를 제공한다. 본 발명자들은 상기 벡터 중에서 가장 효율이 좋은 pBAC^{T7}/JVFLx/*Xba*I 및 pBAC^{SP6}/JVFLx/*Xba*I을 2002년 10월 2일 부로 한국생명공학연구원 유전자은행에 기탁하였다(수탁번호 : KCTC 10346BP, KCTC 10347BP).

<55> IV. 본 발명은 상기 JEV cDNA 벡터로부터 합성된 자가복제할 수 있는 RNA 전사체를 제공한다.

<56> 시험관내 런-오프 전사반응의 경우, 주형(template)으로 사용되는 JEV cDNA는 상기에서 기술한 것과 같이 바이러스의 3'-말단 바로 뒤에 런-오프 자리로써 엔지니어링한 *Xho*I 또는 *Xba*I 제한효소의 절단(digestion)에 의하여 선형화된다(도 3 참조). *Xho*I의 처리에 의하여 선형화된 두 가지 플라스미드(pBAC^{SP6}/JVFL/*Xho*I와 pBAC^{SP6}/JVFLx/*Xho*I)는 m⁷G(5')ppp(5')A 캡 구

조 유사체의 존재하에서 SP6 폴리머라제 런-오프 전사반응을 통해서, 5'-말단에 캡 구조를 가지는 동시에 3'-말단에 바이러스와 연관되지 않은 세 개의 뉴클레오파이드 CGA를 가진 합성 RNA 전사체를 생산하는 데 주형으로 사용된다(도 3의 B 참조). 이와 유사하게, *Xba*I-선형화된 pBAC^{SP6}/JVFLx/*Xba*I 플라스미드는 $\text{m}^7\text{G}(5')\text{ppp}(5')\text{A}$ 캡 구조 유사체의 존재하에서 SP6 폴리머라제 런-오프 전사반응을 통해서, 5'-말단에 캡 구조를 가지는 동시에 3'-말단에 바이러스와 연관되지 않은 네 개의 뉴클레오파이드 CTAG를 가진 합성 RNA 전사체를 생산하는 데 주형으로 사용된다(도 3의 B 참조).

<57> 합성된 JEV RNA 전사체의 특이적 감염성(specific infectivity)을 정량하기 위하여, 감염 센터 분석(infectious center assay)을 실시하였다. 그 결과, 합성된 RNA 전사체는 수용성(susceptible) BHK-21 세포내로 형질전환시켰을 때, 모두 높은 감염성($3.4\text{-}4.3 \times 10^5$ PFU/ μg)을 나타내었다(표 3 참조). 이와 마찬가지로, T7 프로모터를 가지는 세 개의 전체-길이 JEV cDNA pBACT⁷/JVFL/*Xba*I, pBACT⁷/JVFLx/*Xba*I, 및 pBACT⁷/JVFLx/*Xba*I을 주형으로 사용하여 $\text{m}^7\text{G}(5')\text{ppp}(5')\text{A}$ 캡 구조 유사체의 존재하에서 T7 폴리머라제 런-오프 전사반응을 통해서 합성한 RNA 전사체도 높은 특이적 감염성($2.9\text{-}3.8 \times 10^5$ PFU/ μg)을 나타내었다(표 3 참조).

<58> 어떤 플라비바이러스의 경우, 감염이 있는 cDNA로부터 전사된 합성 RNA의 3'-말단에 바이러스와 연관되지 않은 뉴클레오파이드 염기서열이 존재하면 합성된 RNA의 특이적 감염성이 감소되거나 또는 없어진다(abrogate)는 것이 보고되었다(Yamshchikov et al.,

Virology, 2001, 281, 294–304). 상기 보고에 근거하여, JEV cDNA로부터 JEV의 3'-말단에 바이러스와 연관되지 않은 뉴클레오타이드 염기서열이 존재하지 않는 합성된 RNA 전사체의 특이적 감염성을 분석하기 위하여 *Xba*I 처리에 의하여 선형화되고 MBN(mung bean nuclease)으로 처리된 pBAC^{SP6}/JVFLx/*Xba*I^{MBN}(도 3의 B 참조) 및 pBAC^{T7}/JVFLx/*Xba*I^{MBN}(도 3의 C 참조)와 MBN으로 처리하지 않은 pBAC^{SP6}/JVFLx/*Xba*I 및 pBAC^{T7}/JVFLx/*Xba*I으로부터 합성된 RNA 전사체를 BHK-21 세포에 형질전환시켜 합성된 RNA 전사체의 특이적 감염성을 비교하였다. 그 결과, MBN으로 처리된 pBAC^{SP6}/JVFLx/*Xba*I^{MBN} cDNA 주형으로부터 전사된 RNA의 특이적 감염성은 3.1×10^6 PFU/ μ g으로 측정되었는데, 이것은 MBN으로 처리되지 않은 pBAC^{SP6}/JVFLx/*Xba*I cDNA 주형으로부터 전사된 RNA의 특이적 감염성인 3.4×10^5 PFU/ μ g보다 약 10배나 높은 것이다(표 3 참조, infectivity). 또한, pBAC^{T7}/JVFLx/*Xba*I^{MBN} cDNA로부터 합성된 RNA도 MBN 처리 이후에 증가된 감염성을 보였다(2.7×10^6 PFU/ μ g)(표 3 참조, infectivity). 따라서, 본 발명자들은 높은 감염성을 가진 합성된 JEV RNA 전사체를 생산하기 위해서는 JEV 게놈 RNA에 완전한(authentic) 3'-말단이 존재해야함을 확인하였다. 그러므로, 이렇게 개발된 감염성이 있는 JEV cDNA는 10^5 – 10^6 PFU/ μ g의 높은 특이적 감염성을 가지는 합성된 RNA 전사체를 생산하는 런-오프 전사반응을 위한 주형으로 사용될 수 있다.

<59> 이러한 감염성이 있는 JEV cDNA를 조합하기 위한 이전 시도들의 경우(Mishin et al., *Virus Res.*, 2001, 81, 113–123; Zhang et al., *J. Virol. Methods*, 2001, 96, 171–182; Sumiyoshi et al., *J. Infect. Dis.*, 1995, 171, 1144–1151; Sumiyoshi et al., *J. Virol.*, 1992, 66, 5425–5431), 클로닝된 JEV cDNA의 불안정성으로 인하여 모두 실패하였다.

- <60> 이러한 문제를 극복하기 위하여, 두 개의 중첩하는 JEV cDNA를 시험관내 런-오프 전사반응의 주형으로 사용하기 전에 접합시킴으로써 하나의 주형이 제조되도록 디자인된 시스템을 이용한 연구가 시도되었다(Sumiyoshi et al., *J. Virol.*, 1992, 66, 5425-5431). 이렇게 접합된 JEV cDNA 주형으로부터 합성된 RNA 전사체의 특이적 감염성은 약 100 PFU/ μ g이었다. 이것은 너무 낮은 감염성이므로 바이러스의 분자생물학적 및 유전학적 분석을 위하여 상기 시스템을 유용하게 사용할 수 없다(Sumiyoshi et al., *J. Virol.*, 1992, 66, 5425-5431).
- <61> 본 발명에서는 *E. coli*에서 하나 내지 두 카피씩 유지되는 BAC 플라스미드에 JEV cDNA를 클로닝함으로써 유전자의 불안정성을 극복할 수 있었으며, 이렇게 합성된 감염성이 있는 JEV cDNA 플라스미드는 *E. coli*에서 증식되는 180 세대동안은 유전학적으로 안정하게 유지되었다(도 7 참조). 따라서, 본 발명자들은 BAC (bacterial artificial chromosome)을 도입함으로써 JEV 전체-길이의 감염성이 있는 cDNA의 합성시 발생하는 JEV cDNA의 유전학적 불안정성을 극복할 수 있었으며, 또한 합성된 감염성이 있는 JEV cDNA를 안정하게 다룰 수 있게 되었다.
- <62> 전체-길이의 감염성이 있는 JEV cDNA를 주형으로 사용하여 시험관내 전사반응을 통해서 완전한(authentic) 5'-말단 및 3'-말단을 가지는 JEV 합성 RNA 전사체를 합성할 수 있다는 것은 매우 중요한 의미를 가지는데, 그 이유는 몇몇 연구에서 5'-말단 및 3'-말단 부위 모두가 시험관내(You and Padmanabhan, *J. Biol. Chem.*, 1999, 274, 33714-33722) 및 생체내(Khromykh et al., *J. Virol.*, 2001, 75, 6719-6728) 플라비바이러스 RNA 복제의 개시에 요구된다는 것이 알려져 있기 때문이다. 본 발명자들은 감염성이 있는 JEV cDNA를 합성하기 위해서 다른 플라비바이러스의 감염성이 있는 cDNA를 합성할 때 사용된 방법을 응용하였다(van der Werf et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1986, 83, 2330-2334; Rice et al., *New Biol.*, 1989, 1,

285-296). JEV 게놈 RNA에 존재하는 캡 구조는 다이뉴클레오타이드인 AG와 연결되며, 이것은 플라비바이러스에서 매우 보존된 특성이다(Rice, *Flaviviridae: The viruses and their replication*, 1996, 931-960, Lippincott-Raven Publisher). 5'-말단의 완전함(authenticity)은 SP6 또는 T7 프로모터 전사 출발에 필요한 뉴클레오타이드 염기서열을 바이러스 게놈의 시작부위에 위치시킴으로써 확보되었다. SP6 또는 T7 폴리머라제에 의한 전사 반응에 있어서 $m^7G(5')\text{ppp}(5')A$ 캡 구조 유사체를 도입함으로써(Contreras et al., *Nucleic Acids Res.*, 1982, 10, 6353-6362), 본 발명자들은 수용성 세포에 대하여 높은 감염성을 가지며 완전한 5'-말단 및 캡 구조를 가지는 RNA 전사체를 합성하였다. 아울러, SP6 또는 T7 폴리머라제-유도 전사 반응에서 $m^7G(5')\text{ppp}(5')G$ 캡 구조 유사체를 도입하는 것은(Contreras et al., 1982, 10, 6353-6362) 다이뉴클레오타이드 AG 상부에 바이러스와 연관되지 않은 추가적인 G 뉴클레오타이드를 위치시킨다. 종래에 보고된 바와 같이(Rice et al., *New Biol.*, 1989, 1, 285-296), 본 발명자들도 시험관내 전사반응시 추가된 G 뉴클레오타이드가 세포내 형질전환으로 생산된 합성 JEV 자손(synthetic JEV progeny)의 게놈 RNA에서 발견되지 않음을 알 수 있었다. 아울러, 추가적인 G 뉴클레오타이드를 첨가한 경우에도 본 발명자들은 감염성이 있는 cDNA 주형으로부터 합성된 RNA 전사체의 특이적 감염성 또는 자가복제 능력이 변화되지 않는다는 것을 관찰하였다.

<63> JEV RNA의 3'-말단에 위치하는 다이뉴클레오타이드 CT는 플라비바이러스에서 절대적으로 보존되어 있다(Rice,

Flaviviridae: The viruses and their replication, 1996, 931-960, Lippincott-Raven Publisher). 이것은 상기 다이뉴클레오타이드 CT가 바이러스의 자가복제에 있어서 매우 중요하며, 감염성이 있는 cDNA로부터 생산된 RNA 전사체는 완전한 3'-말단을 가지고 있어야 한다는 것을 제시한다. 따라서, 본 발명자들은 합성된 RNA 전사체가 완전한 3'-말단을 가지고 종결될 수 있는 방법으로 JEV에 대한 역상 유전자 시스템을 디자인하였다. 실제로 본 발명자들은 바이러스와 연관되지 않은 3개 또는 4개의 뉴클레오타이드를 3'-말단에 가지고 있는 RNA 전사체 보다 완전한 3'-말단을 가지는 RNA 전사체의 특이적 감염성이 약 10배 더 높다는 것을 보였다.

<64> V. 본 발명은 상기 JEV cDNA 벡터로부터 합성된 RNA 전사체로 형질전환된 세포로부터 얻어진 재조합된 JEV 바이러스(recombinant JEV virus)를 제공한다.

<65> 본 발명에서는 상기 JEV 전체-길이의 감염성이 있는 cDNA로부터 합성된 JEV RNA 전사체로 형질전환된 세포로부터 합성된 JEV(synthetic JEV) 바이러스가 생산된다. 형질전환된 세포들은 JEV 바이러스의 감염에 의해 유도되는 강한 세포변성효과(cytopathic effect)를 보여주며, 상기 형질전환된 세포로부터 얻어진 합성 JEV(synthetic JEV) 바이러스들은 플라크의 형태(plaque morphology), cytopathogenicity, 성장 패턴, 바이러스 단백질의 발현, 및 바이러스 RNA 합성의 관점에서 최초의 모 바이러스(parental virus)인 CNU/LP2 바이러스와 구별할 수 없고(도 5 참조), 높은 바이러스 태이터를 가지는 합성 JEV 바이러스 자손(progeny)을 배출한다. 또한, JEV cDNA 상에 위치지정 돌연변이를 유도하여 *E. coli*에서 감염성이 있는 JEV cDNA를 분자 유전학적으로 조작함으로써 바이러스 돌연변이체가 제조될 수 있다. 따라서, 본 발명의 감염성이 있는 JEV cDNA를 이용한 역상 유전자 시스템은 JEV 게놈의 복제 메카니즘에 대한 유전자 분석 연구에 유용하게 사용될 수 있다.

- <66> VI. 본 발명은 상기 JEV cDNA를 포함하는 JEV 발현 벡터를 제공한다.
- <67> 본 발명은 JEV cDNA가 포유동물에서 발현 벡터로 사용될 수 있는 용도를 제공한다. 최근에 RNA 바이러스의 일원인 알파바이러스(alphavirus)는 일반적으로 생명과학 및 의학분야에서 사용되는 다양한 동물세포에서 복제된다는 장점 때문에 세포배양 및 생체내에서 포유동물세포 발현벡터로 성공적으로 개발되어 사용되어 왔다(Agapov et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1998, 95, 12989-12944; Frolov et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1996, 93, 11371-11377; Schlesinger, *Trends Biotechnol.*, 1993, 11, 18-22). JEV도 인간, 마우스, 원숭이, 돼지, 및 햄스터로부터 유래된 다양한 종류의 포유동물세포에서 자가복제할 수 있음이 보고된 바 있다(Burke and Monath, *Flaviviruses*, 2001, 1043-1125, Lippincott Williams& Wilkins Publishers). 이러한 성질은 JEV가 포유동물세포에서 다양한 종류의 이형 유전자 발현벡터로 유용하게 사용될 수 있음을 뜻한다. 즉, 전체-길이의 감염성이 있는 JEV cDNA를 발현벡터로써 사용하여 이형 유전자를 JEV cDNA상에 삽입하면, 이형 유전자가 포함된 RNA 전사체가 시험관내 전사반응과정을 통해서 생성되고, 이들은 세포내로 형질전환되었을 때 자가복제할 수 있으므로 다양한의 외래 단백질을 제조할 수 있다.
- <68> 이형 유전자를 발현하기 위한 발현 카세트는 JEV 3'NTR 시작부위에 삽입하는 것이 바람직하다. 이형 유전자 발현 카세트를 JEV 3'NTR 시작부위에 삽입한 이유는 CNU/LP2 뿐만 아니라 전체 염기서열이 밝혀진 세 개의 JEV 바이러스종(Williams et al., *J. Gen. Virol.*, 2000, 81, 2471-2480; Nam et al., *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 2001, 65, 388-392; Jan et al., *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1996, 55, 603-609)에서, 9-25 bp의 작은 결실이 바이러스 3'NTR 시작부위에서 관찰되었는데, 이것은 상기 부위가 이형 유전자를 삽입시키기 위한 좋은 부위가 될 수 있

음을 제시하기 때문이다. 따라서, 본 발명에서 개발된 감염성이 있는 JEV cDNA는 포유동물세포를 포함한 다양한 종류의 세포에서 원하는 이형 유전자의 신속한 발현을 위한 발현벡터로 유용하게 사용될 수 있다.

- <69> VII. 본 발명은 상기 JEV 발현벡터를 이용하여 이형 유전자(heterologous gene)를 발현시키는 방법을 제공한다.
- <70> 본 발명의 이형 유전자를 발현시키는 방법은
- <71> 1) JEV cDNA 발현벡터에 이형 유전자를 삽입시켜 재조합된 JEV cDNA 발현벡터를 제조하는 단계;
- <72> 2) 상기 재조합된 JEV cDNA 발현벡터로부터 JEV RNA 전사체를 제조하는 단계;
- <73> 3) 상기 JEV RNA 전사체를 숙주세포에 형질전환시켜 형질전환체를 제조하는 단계;
- <74> 4) 형질전환체를 배양하여 외래 단백질을 발현시키는 단계로 구성된다.
- <75> 원하는 이형 유전자를 원하는 세포내에서 발현시키기 위해서는 원하는 이형 유전자를 세포내로 전달(delivery)시켜줄 발현벡터(expression vector)가 필요하다. 이 발현벡터를 적당한 숙주세포에 형질전환시킴으로써 원하는 이형 유전자의 발현을 기대할 수 있다. 본 발명에서는 전체-길이의 감염성이 있는 JEV cDNA가 포유동물세포(mammalian cell)를 포함한 다양한 종류의 세포들에 이용될 수 있는 이형 유전자 발현벡터(heterologous gene expression vector)로 사용될 수 있음을 확인하였다.

<76> 본 발명자들은 상기에서 기술한 방법으로 GFP(green fluorescent protein)와 LUC(luciferase) 유전자를 가진 전체-길이의 감염성이 있는 JEV cDNA를 재조합하였다. 이렇게 재조합된 JEV cDNA로부터 합성된 JEV RNA 전사체를 BHK-21 세포내에 형질전환시킨 후, 배양상 등액으로부터 GFP와 LUC 유전자를 포함한 재조합된 JEV 바이러스 JVFLx/GFP/*Xba*I^{MBN} 및 JVFLx/LUC/*Xba*I^{MBN} 를 제조하였다. 이렇게 생산된 재조합 JEV 바이러스(recombinant JEV)로부터 GFP와 LUC 유전자의 발현여부는 일반적으로 생명과학 및 의학분야에서 많이 사용되는 다양한 동물 세포주(BHK-21, Vero, NIH-3T3, ST, HeLa, MDCK, CRFK, B103, 및 SHSY-5Y)에 감염시킴으로써 관찰하였다. 그 결과, 바이러스 게놈 RNA에 삽입된 GFP 또는 LUC 유전자는 테스트한 모든 종류의 세포에서 발현됨을 관찰할 수 있었다(표 4 참조). 따라서, 재조합된 JEV cDNA, JEV RNA 전사체, 및 재조합된 JEV 바이러스는 다양한 종류의 세포내에서 외래 이형 유전자의 발현을 위한 벡터로써 유용하게 사용될 수 있음을 확인하였다.

<77> 본 발명의 전체-길이의 JEV 게놈 RNA 및 상기 게놈 RNA에 대한 감염성이 있는 JEV cDNA는 신경침입성 및 병원성에 관여하는 JEV 유전자를 동정하는 것뿐만 아니라, JEV의 복제, 전사 및 번역에 관련된 분자생물학적인 메카니즘의 연구에 사용될 수 있으며, 또한 일본 뇌염의 치료제, 치료용 또는 예방용 백신, 진단시약 및 진단용 기구 등의 개발에도 유용하게 사용될 수 있고, 아울러 진핵세포에서 이형 유전자의 발현 벡터로 유용하게 사용될 수 있다.

<78> 이하, 본 발명을 실시예에 의해 상세히 설명한다.

<79> 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예에 한정 되는 것은 아니다.

<80> <실시예 1> JEV 바이러스의 분리

<81> <1-1> 사용한 세포주 및 바이러스

<82> BHK-21 세포주는 로크펠러 대학의 Charles M. Rice 박사로부터 제공받았으며, 10% fetal bovine serum(FBS), 2 mM L-글루타민, 비타민 및 항생제를 포함하는 α-MEM(minimum essential medium)에서 배양 유지되었다. 세포의 배양에 사용되는 모든 시약들은 Gibco/BRL 사 (Gibco/BRL Life Technologies, Inc., Gaithersburg, MD)로부터 구입하였다. JEV의 한국분리 주인 K87P39(Chung et al., *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1996, 55, 91-97)는 국립보건원(Korean National Institute of Health)으로부터 분주받았다. JEV K87P39 바이러스주는 1987년 한국의 야생 모기로부터 분리된 것이며 새끼(suckling) 마우스의 뇌에서 5차례 계대배양(passage) 되었다. 황열병 바이러스(yellow fever virus) YF17D 바이러스주는 감염성이 있는 cDNA pACNR/YF17D(Charles M. Rice로부터 제공받음)로부터 하기에 기술된 방법과 같이 SP6 RNA 폴리머라제를 이용한 시험관내 런-오프(run-off) 전사반응에 의하여 제조되었다.

<83> <1-2> 플라크의 분리 정제(plaque purification)

<84> JEV K87P39 바이러스에 감염된 수용성 BHK-21 세포 위에 10% FBS 및 0.5% SeaKem LE 아가로즈(FMC BioProducts, Rockland, Maine)를 포함하는 MEM 배양액으로 덮은 후 5% CO₂, 37°C 가 유지되는 배양기에서 배양하였다. 3 내지 4일 동안 배양한 후 감염된 세포들은 3.7% 포름

알데하이드로 실온에서 4시간 고정시킨 다음 덮혀있는 아가로즈를 제거하고 크리스탈 바이오레잇(crystal violet)으로 염색하여 플라크를 나타내었다. 상기에 언급한 플라크 에세이(plaque assay) 결과, K87P39 바이러스는 혼합된 다양한 크기의 플라크들을 나타내었다(도 1의 A, K87P39-infected). 따라서, JEV K87P39 바이러스로부터 일정한 크기의 큰 플라크로 나타나는 JEV 바이러스주를 분리하기 위해서 하기에 설명한 플라크 정제(plaque purification) 방법으로 분리하였으며, CNU/LP2라 명명하였다. K87P39 바이러스에 감염된 수용성 BHK-21 세포위에 10% FBS 및 0.5% SeaKem LE 아가로즈(FMC BioProducts, Rockland, Maine)를 포함하는 MEM 배양액으로 덮은 후 5% CO₂, 37°C가 유지되는 배양기에서 3 내지 4일 동안 배양하였다. 배양 후, 각각의 플라크를 멸균된 파스퇴르 피펫으로 선택한(pick) 후 1 ml의 α-MEM 배양액과 함께 4°C에서 2시간동안 아가로즈로부터 바이러스를 용리(elution)하였다. 용리된 바이러스(elute)는 한차례만 BHK-21 세포에서 증폭하여 JEV CNU/LP2 바이러스의 스톡(stock)으로 사용할 때까지 -80°C에 보관하였다.

<85> 이렇게 분리된 JEV CNU/LP2 바이러스가 BHK-21 세포에 감염되었을 때 나타나는 플라크 형태를 JEV K87P39와 비교하기 위해서 상기에서 언급한 플라크 에세이(plaque assay)를 수행하였다. 그 결과, JEV K87P39 바이러스가 감염된 BHK-21 세포에서는 혼합된 다양한 크기의 플라크들을 관찰할 수 있었다(도 1의 A, K87P39-infected). 반면에, CNU/LP2 바이러스가 감염된 BHK-21 세포에서는 일정한 크기의 큰 플라크들을 관찰할 수 있었다(도 1의 A, CNU/LP2-infected). 또한 BHK-21 세포뿐 아니라, Vero 세포를 이용하여 플라크 형태를 비교하였을 때에도 상기와 같은 결과를 관찰할 수 있었다(도 1의 B).

<86> <1-3> 면역형광(immunofluorescence)

<87> 감염된 BHK-21 세포에서 JEV 바이러스 단백질의 발현을 동초점 현미경(confocal microscopy)으로 조사하기 위하여, 본 발명자들은 2×10^5 세포를 4-웰 챔버 슬라이드에 분주하여 12시간동안 배양시킨 후, 목(mock)-감염시키거나 또는 원래의(original) JEV K87P39 바이러스주, JEV CNU/LP2 분리주(isolate) 또는 YF17D 바이러스주로 1 MOI(multiplicity of infection)에서 18시간동안 감염시켰다. JEV 바이러스 단백질에 대한 면역염색을 위하여, 먼저 0.37%(v/v)의 포름알데히드가 첨가된 PBS와 함께 25°C에서 30분간 배양함으로써 세포를 고정화시켰다. 다음으로 PBS를 이용하여 세포를 세척한 후, 0.2%(v/v) 트리톤 X-100가 첨가된 PBS로 37°C에서 10분간 침투시켰다(permeabilized). 다시 PBS로 세포를 네차례 세척한 후 PBS에서 15분간 재수화시키고(rehydrated), 5%(w/v) BSA를 포함하는 PBS로 37°C에서 1시간동안 블록시켰다. 다음으로, 1:500 희석된 JEV에 특이적인 마우스 과면역 복수액으로 세포를 25°C에서 2시간동안 배양시키고 PBS로 세차례 세척한 후, 1:500 희석된 FITC-결합된 염소 항-마우스 IgG(Jackson ImmunoResearch Labs Inc.)로 25°C에서 2시간동안 배양시킨 후 PBS로 다시 세차례 세척하였다. 그 후, 세포의 핵을 시각화하기 위하여 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 프로피디움 아이오다인 및 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 RNase A를 포함하는 PBS로 37°C에서 30분간 세포를 배양시킨 후, 80% 글리세롤로 마운팅(mounting)을 실시하였다. 63X 대물렌즈(objective)가 장착된 Zeiss Axioskop 동초점 현미경에서 Bio-Rad MRC 1024 및 LaserSharp 소프트웨어를 이용하여 이미지를 얻었다.

<88> 그 결과, CNU/LP2-감염된 BHK-21 세포의 핵 주변막(perinuclear membrane)에서 JEV 바이러스 단백질의 발현을 관찰하였고(도 1의 C, CNU/LP2-infected), K87P39-감염된 BHK-21 세포의 경우에도 유사하였다(도 1의 C, K87P39-infected). 상기 형광염색은 목-감염된 BHK-21 세포(도 1의 C, Mock-infected) 또는 JEV와 매우 유사한 플라비바이러스인 황열병 바이러스 YF17D로 감염된 BHK-21 세포(도 1의 C, YF17D-infected)에서는 관찰되지 않았다. 신경세포주

인 SHSY-5Y(인간) 및 B103(마우스), 비신경세포주인 Vero(원숭이) 및 MDCK(개)을 포함하는 다양한 동물 세포주에 대한 CNU/LP2 감염 결과, 배양 상등액에서 높은 바이러스 태이터(10^6 – 10^7 PFU/ml)가 관찰되었다. 따라서, 본 발명자들은 JEV CNU/LP2를 전체-길이의 감염성이 있는 JEV cDNA의 합성을 위한 모 바이러스주(parental strain)로 사용하였다.

<89> <실시예 2> 완전한 JEV 게놈 RNA의 뉴클레오타이드 염기서열 분석

<90> 본 발명자들은 제조사의 지침에 따라 300 μl 의 TRIzol LS 시약(Gibco/BRL)을 사용하여 100 μl 의 바이러스를 포함하는 배양액으로부터 바이러스 게놈 RNA를 추출한 후, 20 μl 의 RNase 가 제거된 물에 재부유시켰다. 바이러스 게놈 RNA의 완전한 염기서열을 분석하기 위하여, 5'-말단 및 3'-말단을 포함하는 전체 바이러스 게놈RNA을 긴(long) RT-PCR 방법을 이용하여 다섯 개의 중첩하는 cDNA(JVF, JVM, JVR, JV3NTR, 및 JV35NTR)로 증폭시켰다(도 2). cDNA 합성 및 PCR 증폭에 사용된 올리고뉴클레오타이드는 진뱅크(GenBank) 데이터베이스에 염기서열이 모두 밝혀져 있는 16개의 JEV 바이러스 게놈 RNA(CH2195LA, CH2195SA, FU, GP78, HVI, JaGAr01, JaOArS982, K94P05, Vellore P20778, p3, SA(A), SA(V), SA14, SA14-14-2, TC, 및 TL 바이러스 주)에 공통적인(consensus) 염기서열에 기초하여 디자인하였다.

<91> <2-1> JEV 게놈 RNA의 염기서열 분석

<92> 도 2의 A에 나타낸 것과 같이 1-3,865 뉴클레오타이드의 JVF 앰플리콘(amplicon)을 증폭 하기 위하여, JEV 게놈의 3,986-4,003 뉴클레오타이드와 상보적인

서열번호 1로 기재되는 프라이머 J7을 cDNA 합성에 사용하였다. JVF PCR 증폭을 위한 프라이머들은 하기와 같다: 1-18 뉴클레오타이드에 상보적인 서열번호 2로 기재되는 프라이머 J8; 및 3,845-3,865 뉴클레오타이드에 상보적인 서열번호 3으로 기재되는 프라이머 J6. 3,266-8,170 뉴클레오타이드의 JVM 앰플리콘의 경우에는 8,150-8,170에 상보적인 서열번호 4로 기재되는 프라이머 J4가 cDNA 합성을 위하여 사용되었다. JVM PCR 증폭을 위한 프라이머는 하기와 같다: 3,266-3,283 뉴클레오타이드에 상보적인 서열번호 5로 기재되는 프라이머 J20; 및 프라이머 J4. 7,565-10,893 뉴클레오타이드의 JVR 앰플리콘의 경우에는 cDNA 합성을 위하여 10,947-10,967 뉴클레오타이드에 상보적인 서열번호 6으로 기재되는 프라이머 J1이 사용되었다. JVR PCR 증폭을 위한 프라이머는 하기와 같다: 7,565-7,582 뉴클레오타이드에 상보적인 서열번호 7로 기재되는 프라이머 J12; 및 10,870-10,893 뉴클레오타이드에 상보적인 서열번호 8로 기재되는 프라이머 J2. 표준 RT 반응은 10 μ l의 추출된 바이러스 RNA, 5 pmol의 상기에서 언급한 적당한 프라이머, 100 U의 Superscript II RT(Gibco/BRL), 40 U의 RNaseOUT(Gibco/BRL), 0.1 mM의 DTT, 10 mM의 dNTP 혼합액 및 제조사로부터 공급된 RT 버퍼(Gibco/BRL)를 포함하는 20 μ l의 반응 혼합액에서 수행되었다. 반응 혼합액은 37°C에서 1시간 동안 배양되었으며, 이후 70°C에서 15분간 가열시켰다. 5 μ l 당량(aliquot)의 RT 혼합액을 Pyrobest DNA 중합효소(Takara Bio Inc., Shiga, Japan) 및 상기에서 언급한 적당한 프라이머 쌍을 PCR 증폭을 위하여 사용하였다. PCR 반응은 94°C에서 30초간 변성(denaturaton)시키고, 60°C에서 30초간 어닐링(annealing) 시킨 후 72°C에서 5분간 중합(polymerization) 시키는 과정을 30회 반복 실시한 후, 72°C에서 10분간 최종적으로 연장시켰다. 클로닝하는 동안에 일어날 수 있는 선택 편향(selection bias)을 피하기 위하여, PCR 증폭산물의 클로닝되지 않은 앤

플리콘을 사용하여 직접적으로 자동 3700 DNA 서열분석기를 사용하여 양쪽 방향 모두 시퀀싱 함으로써 염기서열분석을 수행되었다.

<93> 그 결과, 3'-말단 및 5'-말단 염기서열을 제외한 서열번호 9로 기재되는 JEV의 전체 염기서열을 결정하였다.

<94> <2-2> JEV 게놈 RNA의 3'-말단 염기서열의 결정

<95> JEV CNU/LP2 게놈 RNA의 3'-말단의 염기서열을 분석하기 위하여, 본 발명자들은

서열번호 10으로 기재되는 합성 오리고뉴클레오타이드 T를 바이러스 게놈 RNA의 3'-말단에 접합시킴으로써 cDNA 합성 및 PCR 증폭을 위한 프라이머 결합 부위를 제공하였다(Kolykhalov et al., *J. Virol.*, 1996, 70, 3363-3371). 이 방법은 C형 간염 바이러스 게놈 RNA의 매우 보존된 3'-말단의 염기서열을 분석하기 위하여 성공적으로 사용되었다(Kolykhalov et al., , 1996, 70, 3363-3371). 오리고뉴클레오타이드 T의 3'-말단은 말단(terminal) 테옥시뉴클레오타이딜 트랜스퍼라제(Takara)를 이용하여 ddATP를 삽입함으로써 최초에 변형되었으며, 이렇게 함으로써 오리고뉴클레오타이드 T의 분자내(intramolecular) 및 분자간(intermolecular) 접합이 일어나지 않도록 하였다. 또한, 오리고뉴클레오타이드 T의 5'-말단은 T4 폴리뉴클레오타이드 인산화효소(Takara)에 의하여 인산화되었다. 이후, T4 RNA 접합효소(ligase, New England Biolabs, Inc., Beverly, MA)을 이용하여 5'-인산화되고 3'-변형된 오리고뉴클레오타이드 T를 바이러스 게놈 RNA의 3'- 말단에 접합시켰다. 20 μ l의 접합 반응 혼합액은 10 U의 T4 RNA 접합효소, 40 U의 RNaseOUT, 10 pmol의 오리고뉴클레오타이드 T, 바이러스 게놈 RNA 및 제조사 (NEB)로부터 제공된 버퍼를 포함한다. 16°C에서 12시간동안 배양한 후, 접합된 바이러스 RNA를 페놀로 추출하고 에탄올로 침전시킨 후 20 μ l의 RNase가 제거된 물에 재부유시켰다. 순차적으로, 오리고뉴클레오타이드 T와 상보적인 서열번호 11로 기재되는 오리고뉴클레오타이드 TR을 사용하여 이전에 기술된 방법에 따라 10 μ l의 오리고뉴클레오타이드와 접합된 바이러스 RNA를 cDNA 합성에 사용하였다. 합성된 cDNA의 증폭은 뉴클레오타이드 10,259-10,276에 상보적인 서열번호 12로 기재되는 프라이머 J35 및 프라이머 TR을 사용하여 수행하였다. PCR을 위하여, 5 μ l 당량(aliquot)의 RT 혼합액을 Pyrobest DNA 중합효소를 사용하여 94°C에서 30초, 60°C에서 30초, 72°C에서 1분간 30회 반복 실시한 후, 최종적으로 72°C에서 10분간 연장시켰다. PCR 반응 혼합액의 조성은 상기에서 기재한 조성과 동일하게 사용하였

다. 양성-센스 및 음성-센스 프라이머에 각각 도입된 *Hind*III 및 *Eco*RI 인식 부위를 사용하여 pRS2 벡터(Charles M. Rice로부터 제공받음)에 상기에서 합성된 cDNA JV3NTR 앤플리콘을 클로닝시켰다(도 2의 B).

<96> 아가로즈 젤 전기영동 결과, 상기에서 증폭된 PCR 산물은 두 개의 밴드로 이동하였으며, 큰 밴드는 약 700 bp, 작은 밴드는 약 450 bp의 크기를 가졌다(도 2의 C). 두 밴드 모두 정제한 후 클로닝하였으며, 각각 큰 밴드 및 작은 밴드를 포함하는 20 내지 10개의 무작위로 선별된 클론들을 이용하여 JEV CNU/LP2의 3'-말단 염기서열을 분석하였다. 전체 서열이 밝혀진 대 부분의 JEV 분리주의 경우에서 보고된 것과 마찬가지로, 본 발명자들은 큰 삽입체(약 700 bp)를 가진 모든 클론들의 바이러스 게놈이 -GATCT¹⁰⁹⁶⁸로 끝난다는 것을 발견하였다. 반면에, 작은 삽입체(약 450 bp)를 가진 모든 클론들은 뉴클레오타이드 10,684에서 종결되어 큰 밴드보다 284 bp 더 짧은 밴드를 가졌다. 작은 삽입체(약 450 bp)의 경우 바이러스 게놈 RNA의 3'-말단에 284개의 뉴클레오타이드를 포함하고 있지 않기 때문에, 전체-길이의 JEV cDNA의 결합(assembly) 과정 동안 본 발명자들은 큰 삽입체(약 700 bp)의 뉴클레오타이드 염기서열을 사용하였다.

<97> <2-3> JEV 게놈 RNA의 5'-말단 염기서열의 결정

<98> JEV CNU/LP2 게놈 RNA의 5'-말단의 염기서열은 자가-접합(self-ligation)된 바이러스 RNA를 이용하여 결정하였다(Campbell and Pletnev,

Virology, 2000, 269, 225-237). 먼저, 담배 산 파이로포스파타제(tobacco acid pyrophosphatase, TAP)를 사용하여 바이러스 게놈 RNA의 캡 구조를 절단하였다. 20 μl 의 절단 반응액은 10 U의 TAP(Epicentre Technol. Co., Madison, WI), 10 μl 의 바이러스 RNA 및 제조사(Epicentre Technol. Co.)로부터 공급된 버퍼를 포함한다. 37°C에서 1시간동안 배양한 후, TAP 처리된 바이러스 RNA를 페놀로 추출하고 에탄올로 침전시킨 후, RNase가 제거된 20 μl 의 물에 재부유시켰다. 캡이 제거된(decapped) 바이러스 RNA의 절반(10 μl)을 상기에서 기술한 바와 같이 T4 RNA 접합효소를 이용하여 20 μl 의 반응 혼합액에서 자가-접합시켰다. cDNA 합성을 위하여 자가-접합된 바이러스 RNA의 1/4(5 μl)를 사용하였으며, 이때 뉴클레오타이드 215-232와 상보적인 서열번호 13으로 기재되는 프라이머 J40을 사용하였다. 이렇게 합성된 첫 번째 사슬(first-strand) cDNA는 뉴클레오타이드 164-181에 상보적인 서열번호 14로 기재되는 프라이머 J39 및 프라이머 J35를 사용하여 PCR 증폭하였다(도 2의 D). 아가로즈 젤 전기영동 결과, 증폭된 산물은 약 850 bp의 단일 밴드임을 확인하였다(도 2의 E). 증폭된 cDNA JV35NTR 앰플리콘을 *ApoI* 및 *SpeI*을 사용하여 절단시킨 후, *ApoI* 및 *XbaI*으로 절단된 pRS2 벡터에 접합 시켜 pRS2/JV3'5'을 제조하였다.

<99> PCR 앰플리콘들을 클로닝한 후, 무작위로 선별된 12개의 클론들의 염기서열을 분석한 결과, 12개의 모든 클론에서 바이러스 3'-말단의 염기서열 -GATCT¹⁰⁹⁶⁸ 다음에 5'-말단의 염기서열 ¹AGAAGT- 가 연결되어 있음을 알 수 있었다(도 2의 B 및 도 2의 C 참조). 또한, 클로닝되지 않은 PCR 앰플리콘의 직접적인 염기서열분석에 의해서도 동일한 결과를 얻을 수 있었다. 따라서, 본 발명자들은 CNU/LP2 분리주(isolate)의 완전한 뉴클레오타이드 염기서열이 서열번호 15로 기재되는 것을 확인하였다.

<100> <실시 예 3> 전체-길이의 감염성이 있는 JEV cDNA의 제조

<101> JEV CNU/LP2 계놈 RNA에 대한 전체-길이의 감염성이 있는 cDNA를 클로닝하기 위한 과정에서 *E. coli*의 높은-카피-수(high-copy-number)의 플라스미드를 벡터로 사용한 경우 바이러스 계놈의 특정한 부위에서 유전자 재배열(genetic rearrangement)이 일어나기 때문에, 감염성이 있는 JEV cDNA는 현재까지 합성되지 않았다. 또한, 상기와 같은 어려움은 다른 플라비바이러스의 경우에도 존재하는 것으로 보고된 바 있다(Campbell and Pletnev, *Virology*, 2000, 269, 225-237; Polo et al., *J. Virol.*, 1997, 71, 5366-5374; Gritsun and Gould, *Virology*, 1995, 214, 611-618; Sumiyoshi et al., *J. Infect. Dis.*, 1995, 171, 1144-1151; Sumiyoshi et al., *J. Virol.*, 1992, 66, 5425-5431; Rice et al., *New Biol.*, 1989, 1, 285-296). 또한, *E. coli*의 낮은-카피-수(low-copy-number)의 플라스미드를 벡터로 사용한 경우에도 높은-카피-수(high-copy-number)의 플라스미드를 사용할 때와 마찬가지로 유전자 재배열(genetic rearrangement)이 일어났으며, 이와 더불어 낮은 플라스미드 양 때문에 조작하기에 많은 어려움이 있었다. 따라서, 본 발명자들은 BAC(bacterial artificial chromosome)인 pBeloBAC11 플라스미드을 벡터로 사용함으로써 JEV 전체-길이의 감염성이 있는 cDNA를 합성하고자 하였다.

<102> <3-1> 세 개의 JEV cDNA 앰플리콘의 서브클로닝

<103> 본 발명자들은 표준 절차에 따라 재조합 DNA 기술을 사용하였다(Sambrook et al., *Molecular cloning*, 1989, Cold Spring Harbor Laboratory). 먼저, 완전한 뉴클레오파이드 염기서열을 분석하기 위하여 사용된 세 개의 중첩하는 cDNA 앰플리콘(JVF, JVM 및 JVR)을

pBeloBAC11 플라스미드의 유도체인 서열번호 42로 기재되는 pBAC/SV에 각각 서브클론(subclone)하였다. 즉, 3,863 bp 크기의 JVF 앰플리콘의 *Rsr*II-*Avr*II 절편, 4,717 bp의 JVM 앰플리콘의 *Bsp*EI-*Mlu*I 절편 및 3,326 bp의 JVR 앰플리콘의 *Rsr*II-*Bgl*II 절편을 동일한 제한효소로 절단시킨 후 pBAC/SV 플라스미드에 각각 삽입시켰다. 그 결과, pBAC/JVF, pBAC/JVM, 및 pBAC/JVR 서브클론이 제조되었다. 상기 BAC 플라스미드를 *E. coli* DH10B 세포에서 성장시킨 후 삽입된 세 개의 JEV cDNA 앰플리콘들의 염기서열을 각각 분석하였다. 세 개의 서브클론에 클로닝된 모든 JEV cDNA의 뉴클레오타이드 염기서열은 JVR에 존재하는 NS5 유전자의 염기 치환($T^{8906} \rightarrow C$)을 제외하고는 모바이러스(parental virus)인 CNU/LP2의 것과 동일하였다. 상기 치환은 단백질 번역의 관점에서는 침묵(silent)하며, 무작위로 선별된 8가지 개별 클론의 염기 서열이 8,906 뉴클레오타이드 위치에서 모두 T 잔기를 보였기 때문에 클로닝 과정에서 이러한 염기 치환이 발생한 것으로 추측된다. $T^{8906} \rightarrow C$ 치환이 대응하는 아미노산의 서열을 변형시키지는 않지만, 이러한 뉴클레오타이드 서열의 변화가 바이러스의 복제에 영향을 미칠 수는 있기 때문에(van Dinten et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1997, 94, 991-996), 본 발명자들은 다시 T 잔기로 치환시켜 원래의 염기서열을 가지도록 하기 위해서 $T^{8906} \rightarrow C$ 치환을 포함하는 8,827-9,142에 대응하는 315 bp *Apa*I-*Hind*III 절편을 재클로닝함으로써 교정(correct)되었으며, 그 결과 pBAC/JVRR이 제조되었다. *E. coli* DH10B 균주에서의 조작 및 증식과정에서, 모든 서브클론의 JEV cDNA는 유전학적으로 안정한 채로 유지되었다.

<104> <3-2> 5'-말단에 SP6 프로모터의 도입

<105> SP6 프로모터 전사 출발점(start)을 전체-길이의 JEV cDNA 5'-말단에 정확하게 삽입시키기 위하여, 본 발명자들은 pBAC/JVF를 변형시켰다. 먼저,

서열번호 16으로 기재되는 프라이머 J41 및 SP6 프로모터의 음성-센스 서열에 해당하는 서열 번호 17로 기재되는 프라이머 J43을 사용하여 pBAC/SV를 PCR하고, 또한 서열번호 18로 기재되는 프라이머 J42 및 서열번호 19로 기재되는 프라이머 J40을 사용하여 pBAC/JVF를 PCR함으로써 두 개의 PCR 앤플리콘을 합성하였다. 상기 두 개의 절편을 프라이머 J41 및 J40을 사용하여 PCR을 수행함으로써 융합시켰다. 그 결과로 생성된 앤플리콘을 *PacI* 및 *PmeI*을 사용하여 절단시킨 후 동일한 *PacI* 및 *PmeI* 효소로 절단된 pBAC/JVF에 접합시켜서 pBAC^{SP6}/JVF를 생성하였다.

<106> <3-3> SP6 프로모터를 포함하는 JEV 전체-길이의 cDNA 제조

<107> 본 발명자들은 pBAC/JVRR을 엔지니어링하여 JEV 바이러스 3'-말단의 뉴클레오타이드 염기서열이 *XhoI* 또는 *XbaI*의 유일한(unique) 제한효소 인식 부위를 가지도록 하였다. 바이러스 게놈 RNA의 3'-말단에 유일한 *XhoI* 인식 부위를 포함하는 pBAC/JVRR/*XhoI* 서브클론을 제조하기 위하여, pRS2/JV3'5'을 서열번호 20으로 기재되는 프라이머 J90 및 *XhoI* 인식 부위를 포함하는 서열번호 21로 기재되는 프라이머 J45를 사용하여 PCR을 수행함으로써 절편 I을 합성하였다. 298-bp *SfiI-SpeI* 부위의 절편 I 앤플리콘을 *SfiI* 및 *NheI*으로 절단시킨 pBAC/JVRR에 접합시켜서 pBAC/JVRR/*XhoI* 서브클론을 제조하였다. 바이러스 게놈의 3'-말단에 *XbaI* 인식 부위를 가지는 pBAC/JVRRx/*XbaI* 서브클론을 제조하기 위하여, 먼저 PCR을 이용하여 NS5 유전자의 9,132 뉴클레오타이드에 이미 존재하는 *XbaI* 인식 부위에 침묵(silent) 점 돌연변이(A⁹¹³⁴ → T)를 도입함으로써 제한효소의 인식 부위를 제거하였다. pBAC/JVRRx/*XbaI* 서브클론상에 표시된 "x"는 이 침묵 점 돌연변이(A⁹¹³⁴ → T)를 나타낸다. 구체적으로, pBAC/JVRR을

서열번호 22로 기재되는 프라이머 J31 및 A⁹¹³⁴ → T 치환을 도입시키는 서열번호 23으로 기재되는 프라이머 J47을 이용하여 증폭시켰다. 뉴클레오파이드 8,828-9,143에 대응하는 cDNA 앤플리콘의 315 bp *Apal-HindIII* 부위를 pBAC/JVRR에 클로닝시켜 pBAC/JVRRx를 제조하였다. 다음으로, pBAC/JVRR/*XbaI*의 경우와 동일한 방법을 사용하여 pBAC/JVRRx/*XbaI* 서브클론을 제조하였다. 따라서, 프라이머 J90 및 *XbaI* 부위를 포함하는 서열번호 24로 기재되는 프라이머 J46을 사용하여 pRS2/JV3'5'을 PCR에 의해 증폭함으로써 절편 II를 얻었다. 절편 II 앤플리콘의 298 bp *SfiI-SpeI* 부위를 *SfiI* 및 *NheI*으로 절단시킨 pBAC/JVRRx에 접합시켜서 pBAC/JVRRx/*XbaI* 서브클론을 제조하였다. 단일한 *XbaI* 부위 및 A⁹¹³⁴ → T 치환부위를 포함하는 pBAC/JVRRx/*XbaI* 서브클론을 제조하기 위하여, 절편 I 앤플리콘의 298 bp *SfiI-SpeI* 부위를 *SfiI* 및 *NheI*으로 절단시킨 pBAC/JVRRx에 접합시켜서 pBAC/JVRRx/*XbaI* 서브클론을 제조하였다.

<108> 상기와 같은 방법으로 본 발명자들은 pBAC^{SP6}/JVF, pBAC/JVM, pBAC/JVRR/*XbaI*, pBAC/JVRRx/*XbaI* 및 pBAC/JVRRx/*XbaI*의 다섯 가지 플라스미드를 제조하였다. 상기 플라스미드들은 JEV 게놈 RNA를 중첩하여 나타내며, 하기에 기술한 것과 같이 JEV 전체-길이의 감염성이 있는 cDNA를 합성하는 데 사용되었다. 먼저, pBAC/JVM의 4,717 bp *BspEI-MuI* 절편, pBAC^{SP6}/JVF의 8,970 bp *BspEI-XbaI* 절편, 및 pBAC/SV의 3,670 bp *XbaI-MuI* 절편을 접합시킴으로써 pBAC^{SP6}/JVFM 서브클론을 제조하였다. 순차적으로, pBAC^{SP6}/JVFM의 두 가지 절편인 8,142 bp의 *PacI-SapI* 절편과 4,801 bp의 *PacI-BsrGI* 절편을 i) pBAC^{SP6}/JVFL/*XbaI*을 제조하기 위하여 pBAC/JVRR/*XbaI*의 5,620 bp *SapI-BsrGI* 절편과, ii) pBAC^{SP6}/JVFLx/*XbaI*을 제조하기 위하여 pBAC/JVRRx/*XbaI*의 5,622 bp *SapI-BsrGI* 절편과, 또는 iii) pBAC^{SP6}/JVFLx/*XbaI*을 제조하기 위하여 pBAC/JVRRx/*XbaI*의 5,620 bp *SapI-BsrGI* 절편과 각각 접합시켰다.

- <109> 최종적으로 생성된 세 개의 전체-길이 JEV cDNA 플라스미드는 각각 pBAC^{SP6}/JVFL/XbaI, pBAC^{SP6}/JVFLx/XbaI 및 pBAC^{SP6}/JVFLx/XbaI으로 명명하였으며, 서열번호 43, 서열번호 44, 및 서열번호 45로 기재하였다(도 3의 B). 상기 cDNA 클론들은 모두 바이러스 게놈의 처음(begiinning) 부위에 SP6 프로모터 전사출발(transcription start)를 가지며, SP6 RNA 폴리머라제를 사용한 시험관내 전사반응을 통해서 완전한(authentic) 5'-말단을 가지는 합성 RNA 전사체가 생산될 수 있다(도 3의 B, 회색 박스). 런-오프(run-off) 전사 후 바이러스 게놈의 3'-말단을 완전하거나 또는 완전한 것에 가깝게 하기 위하여, 본 발명자들은 XbaI 또는 XbaI 제한효소 인식 부위를 바이러스 게놈의 말단에 위치시켰다(도 3의 B, 밀줄). 따라서, pBAC^{SP6}/JVFL/XbaI은 바이러스 게놈의 말단에 XbaI 인식 부위를 가진다. 바이러스 게놈의 NS5 유전자에 이미 XbaI 인식 부위가 존재하기 때문에, 바이러스 게놈의 바로 말단에 XbaI 인식 부위를 가지게 하기 위하여 NS5 유전자에 존재하는 XbaI 인식 부위에 침묵(silent) 점 돌연변이(A⁹¹³⁴ → T)를 도입하여 XbaI 인식 부위를 제거하였다. 상기 콘스트럭트(construct)는 pBAC^{SP6}/JVFLx/XbaI으로 명명하였으며, 여기에서 'x'는 원래의(original) XbaI 인식 부위가 제거된 침묵 점 돌연변이가 존재한다는 것을 의미한다. 세 번째 클론인 pBAC^{SP6}/JVFLx/XbaI은 바이러스 게놈의 말단에 런-오프 자리로써 XbaI 인식 부위와 A⁹¹³⁴ → T 치환을 모두 포함한다.
- <110> 본 발명자들은 JEV cDNA를 포함하는 pBAC^{SP6}/JVFLx/XbaI을 2002년 10월 2일 부로 한국생명공학연구원 유전자은행에 기탁하였다(수탁번호 ; KCTC 10347BP).
- <111> <3-4> T7 프로모터를 포함하는 JEV 전체-길이의 cDNA 제조

- :12> 상기 실시예 <3-3>과 같은 방법으로, 본 발명자들은 SP6-유도된(driven) JEV cDNA와 더 불어 세 개의 T7-유도된 전체-길이의 JEV cDNA의 세트를 제조하였다. 먼저, 서열번호 25로 기재되는 프라이머 J81 및 서열번호 26으로 기재되는 프라이머 J80을 사용하여 pBAC/NADLcIn⁻/PAC(Charles M. Rice로부터 제공받음) 유래의 절편을 PCR에 의하여 합성하였다. 또한, 서열번호 27로 기재되는 J42 프라이머 및 서열번호 28로 기재되는 J82 프라이머를 사용하여 pBAC^{SP6}/JVFLx/XbaI 유래의 절편을 합성하였다. 상기 두 개의 절편을 프라이머 J81 및 J82를 사용하여 PCR함으로써 융합시켰다. 그 결과 생성된 앰플리콘의 793-bp EcoRI-SpeI 절편을 EcoRI 및 XbaI으로 절단시킨 pRS2 벡터에 삽입시켜 pRS2^{T7/5'JV}를 제조하였다. pRS2^{T7/5'JV}의 675 bp PvuI-PmeI 절편을 i) pBACT⁷/JVFL/XhoI을 제조하기 위하여 pBAC^{SP6}/JVFL/XhoI의 18,364 bp PacI-PmeI 절편과, ii) pBACT⁷/JVFLx/XhoI을 제조하기 위하여 pBAC^{SP6}/JVFLx/XhoI의 18,364 bp PacI-PmeI 절편과, 또는 iii) pBACT⁷/JVFLx/XbaI을 제조하기 위하여 pBAC^{SP6}/JVFLx/XbaI의 18,366 bp PacI-PmeI 절편과 각각 접합시켰다.
- :13> 생성된 플라스미드는 각각 pBACT⁷/JVFL/XhoI, pBACT⁷/JVFLx/XhoI, 및 pBACT⁷/JVFLx/XbaI으로 명명하였으며, 서열번호 46, 서열번호 47, 및 서열번호 48로 기재하였다(도 3의 C). 각각의 클로닝 단계에서, 제한효소 및 뉴클레오타이드 서열 분석을 광범위하게 실시하여 클로닝된 cDNA의 구조를 분석하였다. 그 결과, 결실 또는 재배열에 따른 삽입체의 구조상의 유전학적 불안정성은 관찰되지 않았다.
- :14> 본 발명자들은 JEV cDNA를 포함하는 pBACT⁷/JVFLx/XbaI을 2002년 10월 2일 부로 한국생명공학연구원 유전자은행에 기탁하였다(수탁번호 ; KCTC 10346BP).

<115> <실시 예 4> 전사 및 형질전환

<116> 본 발명자들은 상기에서 합성된 전체-길이의 JEV cDNA를 주형으로 사용하여 시험관내 전사반응에 의하여 합성 JEV RNA 전사체를 생산하였다. 이를 위하여, 100-200 ng의 주형 DNA를 *Xba*I 또는 *Xba*I으로 절단시켜 선형화시킨 후, 제조사(Gibco/BRL)에 의하여 제공된 버퍼, 0.6 mM 캡 유사체 [$m^7G(5')ppp(5')A$ 또는 $m^7G(5')ppp(5')G$, NEB Inc.], 0.5 μM 의 [3H]UTP(1.0 mCi/ml, 50 Ci/mmol, New England Nuclear Corp., Boston, MA), 10 mM의 DTT, 각각 1 mM의 UTP, GTP, CTP 및 ATP, 40 U의 RNaseOUT 및 15 U의 SP6 RNA 폴리머라제(Gibco/BRL)로 구성된 25 μl 의 반응 혼합액에 첨가하였다. 상기 반응 혼합액은 37°C에서 1시간동안 배양하였다. DE-81 여과지(Whatman, Maidstone, UK)에 RNA가 흡수되는 [3H]UTP 함입(incorporation)에 기초하여 RNA를 정량하였다(Sambrook et al., *Molecular cloning*, 1989, Cold Spring Harbor Laboratory). 그 후, 1 내지 1.5 μl 당량의 반응 혼합액을 이용하여 아가로즈 젤 전기영동을 실시하였다.

<117> 상기에서 합성된 RNA 전사체를 세포내로 형질전환시키기 위하여, ECM 830 일렉트로포레이터(BTX Inc., San Diego, CA)를 사용하여 제조사의 지침에 따라 세포에 합성 RNA를 일렉트로포레이션시켰다. 간략하게 설명하면, 아포화(subconfluent) 상태의 세포에 트립신을 처리하고 RNase가 제거된 차가운 PBS를 이용하여 세 차례 세척한 후, 2 $\times 10^7$ 세포/ml의 농도로 PBS에 재부유시켰다. 400 μl 당량의 부유물을 2 μg 의 합성 RNA와 혼합한 후, 이전 실험에서 최적의 조건으로 결정된 조건(980 V, 99- μs 펄스 길이, 및 5 펄스)에서 세포를 즉시 일렉트로포레이션시켰다. 일렉트로포레이션된 혼합액을 10 ml의 신선한 배양액으로 옮겼다.

<118> 또한, 합성 RNA의 특이적 감염성(specific infectivity)을 정량하기 위하여, 감염 센터 분석(infectious center assay)을 실시하였다. 구체적으로, 런-오프 전사의 경우 JEV cDNA 주

형은 *XbaI* 또는 *XbaI* 제한효소의 절단에 의하여 선형화되었다. $\text{m}^7\text{G}(5')\text{ppp}(5')\text{A}$ 캡 구조 유사체의 존재하에서 *XbaI*의 처리에 의하여 선형화된 두 개의 플라스미드(pBAC^{SP6}/JVFL/*XbaI*와 pBAC^{SP6}/JVFLx/*XbaI*)는 SP6 폴리머라제 런-오프 전사로부터 5'-말단에 캡 구조를 가지고 있으며, 3'-말단에 바이러스와 연관되지 않은 CGA 뉴클레오타이드 염기서열을 가지고 있는 합성 RNA가 생산되었다(도 3의 B). 이와 유사하게, *XbaI*-선형화된 pBAC^{SP6}/JVFLx/*XbaI* 플라스미드는 SP6 폴리머라제 런-오프 전사로부터 5'-말단에 캡 구조를 가지고 있으며, 3'-말단에 바이러스와 연관되지 않은 CTAG 뉴클레오타이드 염기서열을 가지고 있는 합성 RNA가 생산되었다. 일렉트로포레이션된 세포들을 순차적으로 10배씩 희석하여 6-웰 플레이트에서 성장하는 감염되지 않은 단층 세포(5×10^5)에 분주하였다. 6시간동안 배양하여 플레이트에 세포를 부착시킨 후, 0.5%의 SeaKem LE 아가로즈를 포함하는 MEM 배지에 상기에서 기술한 방법으로 세포를 배양하였다. 세포를 37°C, 5% CO₂ 조건에서 3 내지 4일간 배양시킨 후, 감염 플라크 센터를 크리스탈 바이올렛(crystal violet) 염색에 의하여 시각화시켰다.

:119> 그 결과, 수용성(susceptible) BHK-21 세포가 상기의 합성 RNA로 형질전환되었을 때, 모두 높은 특이적 감염성을 나타내었다(표 3). 즉, 최적의 일렉트로포레이션 조건에서 형질전환된 pBAC^{SP6}/JVFL/*XbaI*, pBAC^{SP6}/JVFLx/*XbaI* 및 pBAC^{SP6}/JVFLx/*XbaI*으로부터 얻은 합성 RNA의 경우, 특이적 감염성이 각각 3.5×10^5 , 4.3×10^5 및 3.4×10^5 PFU/ μg 이었다. 이와 유사한 결과가 T7 폴리머라제 런-오프 전사에 의하여 T7-유도된 JEV cDNA로부터 전사된 합성 RNA에서도 관찰되었다.

<120> 【표 3】

전체-길이의 JEV cDNA로부터 합성된 RNA 전사체의 시험관내 특이적 감염성 및 바이러스 타이터

전사에 사용된 주형 ^a	감염성 ^b (PFU/ μ g of RNA)	바이러스 타이터 ^c (PFU/ml)	
		24 시간	48 시간
pBACSP6/JVFL/XbaI	3.5×10^5	4.4×10^5	3.6×10^6
pBACT7/JVFL/XbaI	2.9×10^5	2.0×10^5	2.3×10^6
pBACSP6/JVFLx/XbaI	4.3×10^5	2.1×10^5	5.2×10^6
pBACT7/JVFLx/XbaI	3.8×10^5	3.3×10^5	4.1×10^6
pBACSP6/JVFLx/XbaI ^{MBN}	3.4×10^5	3.5×10^5	3.2×10^6
pBACT7/JVFLx/XbaI ^{MBN}	3.0×10^5	2.4×10^5	2.7×10^6
pBACSP6/JVFLx/XbaI ^{MBN}	3.1×10^6	6.2×10^6	1.4×10^6
pBACT7/JVFLx/XbaI ^{MBN}	2.7×10^6	5.6×10^6	2.4×10^6

<121> a : 모든 전체-길이 JEV cDNA는 제한효소 처리에 의하여 선형화됨

<122> b : SP6 또는 T7 RNA 중합효소를 사용하여 시험관내 전사 후, BHK-21 세포를 형질전환시키기 위하여 샘플을 사용함

<123> <4-1> JEV cDNA로부터 합성된 JEV RNA 전사체의 3'-말단에 바이러스와 연관되지 않은 뉴클레오타이드 염기서열을 포함하지 않는 JEV RNA 전사체의 합성

<124> 어떤 플라비바이러스의 경우, 감염성이 있는 cDNA로부터 전사된 합성 RNA의 3'-말단에 바이러스와 연관되지 않은 서열이 존재하면 특이적 감염성이 감소되거나 또는 없어진다 (abrogate)는 것이 보고되었다(Yamshchikov et al., *Virology*, 2001, 281, 294-304). 상기 보고에 근거하여, 본 발명자들은 추가로 존재하는 CTAG 뉴클레오타이드를 전사반응 전에 제거하기 위하여 XbaI-선형화된 pBACSP6/JVFLx/XbaI 플라스미드를 녹두 뉴클레아제(mung bean nuclease, MBN)로 처리함으로써 바이러스와 연관되지 않은 뉴클레오타이드 염기서열을 가지고 있지 않는 합성 JEV RNA를 제조하고자 하였다. XbaI-선형화되고 MBN-처리된 pBACSP6/JVFLx/

$XbaI^{MBN}$ 으로부터 합성된 JEV RNA(도 3의 B, pBAC^{SP6}/JVFLx/ $XbaI^{MBN}$)를 $XbaI$ -선형화되었지만 MBN으로 처리하지 않은 pBAC^{SP6}/JVFLx/ $XbaI$ (도 3의 B, pBAC^{SP6}/JVFLx/ $XbaI$)으로부터 합성된 JEV RNA와 비교하였을 때 pBAC^{SP6}/JVFLx/ $XbaI^{MBN}$ 으로부터 합성된 JEV RNA가 증가된 특이적 감염성을 보였다(표 3, Infectivity). 즉, MBN-처리된 pBAC^{SP6}/JVFLx/ $XbaI^{MBN}$ 으로부터 전사된 RNA의 감염성은 3.1×10^6 PFU/ μg 으로 측정되었는데, 이것은 MBN-처리되지 않은 cDNA 주형 pBAC^{SP6}/JVFLx/ $XbaI$ 으로부터 전사된 RNA의 특이적 감염성인 3.4×10^5 PFU/ μg 보다 약 10배나 높은 것이다(표 3, Infectivity). 또한, pBAC^{T7}/JVFLx/ $XbaI$ (3.0×10^5 PFU/ μg) 유래의 RNA들도 MBN 처리 이후에 증가된 감염성을 보였다(2.7×10^6 PFU/ μg)(표 3, Infectivity). 따라서, 본 발명자들은 높은 감염성을 지닌 합성 JEV RNA 전사체가 생산되기 위해서는 JEV 게놈 RNA에 완전한(authentic) 3'-말단이 존재해야함을 확인하였다.

<125> 또한, 3 내지 4개의 JEV 바이러스와 연관되지 않은 뉴클레오타이드가 3'-말단에 존재함으로 인하여 변형된 RNA 전사체의 특이적 감염성은 형질전환된 BHK-21 세포의 배양 상등액에서 수집한 바이러스 타이터(titer)에도 영향을 미쳤다. MBN이 처리되지 않은 pBAC^{SP6}/JVFL/ Xho I, pBAC^{SP6}/JVFLx/ Xho I 및 pBAC^{SP6}/JVFLx/ $XbaI$ 유래의 RNA 전사체로 형질전환된 BHK-21 세포로부터 방출된 바이러스 타이터는 형질전환 후 24시간이 경과했을 때 $2.1-4.4 \times 10^5$ PFU/ml 범위였다(

표 3, Virus titer 24hr). 이 시점에서 형질전환된 세포의 절반만이 여전히 배양 접시에 부착되어 있었는데, 이것은 바이러스에 의해 유도되는 강한 세포변성효과(cytopathic effect)를 보여준다. 상기 타이터는 형질전환 후 48시간이 경과했을 때 $3.2\text{--}5.2 \times 10^6$ PFU/ml 범위로 증가하였는데(표 3, Virus titer 48hr), 이 시점에서 대부분의 세포는 죽어서 배양 접시의 바닥에서 떨어졌다. 하지만, MBN-처리된 pBAC^{SP6}/JVFLx/*XbaI*^{MBN} 유래의 RNA 전사체는 형질전환 후 24시간이 경과했을 때 이미 6.2×10^6 PFU/ml에 도달하였고, 이때 대다수의 형질전환된 세포들이 죽었다(표 3, Virus titer 24hr). 상기 타이터는 형질전환후 48시간에 1.4×10^6 PFU/ml로 약간 감소하였다(표 3, Virus titer 48hr). 또한, 상기에서 합성된 T7-유도된 감염성이 있는 JEV cDNA(pBAC^{T7}/JVFL/*XhoI*, pBAC^{T7}/JVFLx/*XhoI*, pBAC^{T7}/JVFLx/*XbaI*, 및 pBAC^{T7}/JVFLx/*XbaI*^{MBN})을 주형으로 사용하여 T7 폴리머라제를 이용한 시험관내 전사반응으로 얻은 합성 JEV RNA 전사체의 경우에도 동일한 패턴의 바이러스 생산이 관찰되었다(표 3).

<126> <실시 예 5> 합성 RNA 전사체의 감염성 확인

<127> 본 발명자들은 특이적 감염성이 전체-길이의 JEV cDNA 클론 pBAC^{SP6}/JVFLx/*XbaI*^{MBN}을 주형으로 사용하여 합성된 RNA 전사체로부터 나타난다는 것을 확인하였다(도 4). cDNA 주형 자체로는 감염성이 없었으나(도 4의 A, 레인 5 및 B, Without SP6 Pol), 시험관내 전사반응 동안 DNase I을 처리하면 감염성이 없어지기 때문에 전사 반응 동안에는 완전한 cDNA 주형이 요구 된다는 것을 확인하였다(도 4의 A, 레인 2 및 B, DNase During). 완전한 반응 혼합액과 비교 하였을 때(도 4의 A, 레인 1 및 B, Without Treatment), 전사 반응 후에 DNase I을 첨가하는

것은 영향을 미치지 않았다(도 4의 A, 레인 3 및 B, DNase After). 그러나, 반응 후 RNase A를 처리하면 전사된 합성 RNA의 감염성이 제거되었다(도 4의 A, 레인 4 및 B, RNase After).

<128> <실시예 6> 전체-길이의 감염성이 있는 JEV cDNA로부터 생산된 합성 JEV 바이러스(synthetic JEV virus)와 모 바이러스(parental virus) CNU/LP2와의 특성 비교

<129> 본 발명자들은 전체-길이의 감염성이 있는 JEV cDNA(pBAC^{SP6}/JVFL/XbaI, pBAC^{SP6}/JVFLx/XbaI, pBAC^{SP6}/JVFLx/XbaI^{MBN}) 주형으로부터 생산된 합성 JEV 바이러스(synthetic JEV virus)와 최초에 cDNA의 제조를 위하여 사용한 모 바이러스(parental virus)인 CNU/LP2를 플라크 형태, 바이러스 성장 키네틱스(growth kinetics), 바이러스 단백질의 합성, 및 바이러스 계놈 RNA의 합성을 각각 비교하였다.

<130> <6-1> 플라크 에세이(plaque assay)에 의한 플라크 형태 비교

<131> 본 발명자들은 BHK-21 세포에 상기의 감염성이 있는 JEV cDNA(pBAC^{SP6}/JVFL/XbaI, pBAC^{SP6}/JVFLx/XbaI, pBAC^{SP6}/JVFLx/XbaI^{MBN}) 주형으로부터 얻어진 합성 JEV 바이러스와 모 바이러스 CNU/LP2를 감염시킨 후 10% FBS 및 0.5% SeaKem LE 아가로즈(FMC BioProducts,

Rockland, Maine)를 포함하는 MEM 배양액으로 덮어서 5% CO₂, 37°C가 유지되는 배양기에서 배양하였다. 3 내지 4일 동안 배양한 후, 감염된 세포들은 3.7% 포름알데하이드로 실온에서 4시간 고정시킨 다음 덮혀있는 아가로즈를 제거하고 크리스탈 바이오레잇(crystal violet)으로 염색하여 플라크를 시작화하였다. 그 결과, 도 5의 A에서 볼 수 있는 바와 같이, pBAC^{SP6}/JVFL/XbaI(접시 1), pBAC^{SP6}/JVFLx/XbaI(접시 2), pBAC^{SP6}/JVFLx/XbaI(접시 3) 및 pBAC^{SP6}/JVFLx/XbaI^{MBN}(접시 4)로부터 생산된 합성 JEV 바이러스로 감염된 BHK-21 세포는 CNU/LP2로 감염된 세포(접시 5)의 경우와 유사하게 동일한 크기의(homogeneous) 큰 플라크를 형성하였다.

<132> <6-2> 바이러스의 성장 키네틱스 비교

<133> 본 발명자들은 BHK-21 세포에 상기의 감염성이 있는 JEV cDNA(pBAC^{SP6}/JVFL/XbaI, pBAC^{SP6}/JVFLx/XbaI, pBAC^{SP6}/JVFLx/XbaI^{MBN}) 주형으로부터 얻어진 합성 JEV 바이러스와 모 바이러스 CNU/LP2를 낮은(0.01 PFU/세포), 중간(1.0 PFU/세포), 및 높은(10 PFU/세포) MOI(multiplicities of infection)로 감염시킨 후, 시간이 경과함에 따라 감염된 BHK-21 세포에서 생산되는 JEV 바이러스의 성장 키네틱스(kinetics)를 분석하기 위하여 세포 배양액을 주기적으로 수집하여 상기에 기술한 플라크 에세이를 통해 바이러스 타이터를 측정하였다. 그 결과, 도 5의 B에서 볼 수 있는 바와 같이, 시간에 따라 축적되는 바이러스 타이터는 본 발명에서 실시한 세 가지 모든 MOI(0.01, 1.0, 및 10)에서 네 가지의 합성 JEV 바이러스(pBAC^{SP6}/JVFL/XbaI, pBAC^{SP6}/JVFLx/XbaI, pBAC^{SP6}/JVFLx/XbaI^{MBN}, 및 pBAC^{SP6}/JVFLx/XbaI^{MBN}) 및 모 바이러스 CNU/LP2의 경우에 모두 유사하였다.

<134> <6-3> 웨스턴 블롯 분석을 통한 바이러스 단백질의 합성 비교

<135> 본 발명자들은 상기의 감염성이 있는 JEV cDNA(pBAC^{SP6}/JVFL/XbaI, pBAC^{SP6}/JVFLx/XbaI, pBAC^{SP6}/JVFLx/XbaI, 및 pBAC^{SP6}/JVFLx/ XbaIMBN) 주형으로부터 얻어진 합성 JEV 바이러스와 모바이러스 CNU/LP2로 감염된 BHK-21 세포에서 발현되는 JEV 바이러스의 단백질을 비교하였다. 구체적으로, 1 MOI로 감염된 3×10^5 BHK-21 세포를 200 μl 의 샘플 로딩 버퍼(80 mM Tri-HCl(pH 6.8), 2.0% SDS, 10% 글리세롤, 0.1 M DTT, 0.2% 브로모페놀 블루)를 이용하여 용해시킨 후, 용해된 세포(lysate)의 1/10을 5분간 끓인 후 SDS-폴리아크릴아마이드 젤에서 분획화시켰다 (fractionated). 트랜스-블롯(trans-blot) SD 전기영동 전달 세포 기계(electrophoretic transfer cell machine, Bio-Rad Labs Inc. Hercules, CA)를 이용하여 SDS-폴리아크릴아마이드 젤로부터 메탄올로 활성화시킨 폴리비닐리딘 디이플루오라이드 막으로 단백질을 전기적으로 옮긴 후, 세척 용액(0.2% 트원 20이 첨가된 PBS)에 용해시킨 5% 비지방 분유를 이용하여 실온에서 1시간 동안 막을 블록시켰다. 세척 용액으로 세 차례 세척한 후, 액틴 단백질의 모든 동소체(isoform)의 C-말단에 보존되어 있는 에피토프(epitope)를 인식하는 단클론 항-액틴 항체(A4700, Sigma, St. Louis, MO) 또는 JEV에 특이적인 마우스 과면역성(hyperimmune) 복수액(ascites fluid)(ATCC VR-1259AF)으로 실온에서 2시간동안 막을 배양하였다. 세척 용액으로 막을 세 차례 세척한 후, alkaline phosphatase(AP)와 결합된 염소 항-마우스 IgG(Jackson ImmunoResearch Labs Inc., West Grove, PA)로 실온에서 2시간동안 배양하였다. 막을 세척용액으로 세 차례 세척한 후 PBS로 한번 세척하였다. 막에 존재하는 액틴 또는 JEV 단백질 밴드는 기질인 5-브로모-4-클로로-3-인돌릴-포스페이트 및 니트로블루 테트라졸리움을 막과 함께 배양함으로써 시각화시켰다. 그 결과, 합성 JEV 바이러스 및 모 바이러스 모두 유사한 양과

동일한 패턴의 JEV 바이러스-특이적 단백질을 생산한다는 것을 확인하였다(도 5의 C, 위 패널). 샘플 로딩 대조군으로는 액틴(actin) 단백질을 사용하였으며, 동일한 양의 액틴 단백질이 목-감염된 세포와 합성 JEV 바이러스 및 모 바이러스로 감염된 세포에 존재함을 확인하였다(도 5의 C, 아래 패널).

:136> <6-4> 노던 블롯 분석을 통한 바이러스 게놈 RNA의 합성 비교

:137> 본 발명자들은 상기의 감염성이 있는 JEV cDNA(pBAC^{SP6}/JVFL/

*Xba*I, pBAC^{SP6}/JVFLx/*Xba*I, pBAC^{SP6}/JVFLx/*Xba*I, 및 pBAC^{SP6}/JVFLx/*Xba*I^{MBN}) 주형으로부터 얻어진 합성 JEV 바이러스와 모 바이러스 CNU/LP2로 감염된 BHK-21 세포에서 발현되는 JEV 바이러스의 RNA를 비교하였다. 구체적으로, 1 ml의 TRIzol 시약(Gibco/BRL)을 사용하여 3×10⁵의 감염된 BHK-21 세포로부터 전체 RNA를 추출하였다. JEV-특이적 RNA를 분석하기 위하여, 추출된 전체 RNA의 1/3에 대하여 노던 블롯 분석을 실시하였다(Sambrook et al., *Molecular cloning*, , Cold Spring Harbor Laboratory). 2.2 M 포름알데히드-1% 아가로즈 젤에서 RNA를 전기영동한 후 나일론 막(Amersham Biosciences Inc., Piscataway, NJ)으로 전달하였다. 254 nm 선원의 Stratalinker UV cross-linker(Stratagene, La Jolla, CA)를 사용하여 막에 존재하는 RNA를 막과 상호-연결(cross-link)시킨 후, JEV 계놈의 9,143–9,351 뉴클레오파이드 염기서열에 상보적으로 결합하는 [³²P]CTP-표지된 안티센스 리보프로브(riboprobe)와 함께 배양시킴으로써 JEV-특이적 RNA를 검출하였다. [pBAC^{SP6}/JVFLx/*Xba*I의 209 bp *Hind*III-*Sac*I 절편을 pGEM3zf(+)에 삽입시켜 pGEM3zf(+)/JV9143을 제조하였다. pGEM3zf(+)/JV9143를 *Bam*HI 효소로 절단시켜서 *Bam*HI-선형화된 cDNA 클론으로부터 시험관내 전사반응을 통해서 상기 리보프로브를 합성하였다. T7-MEGAscript 키트(Ambion, Austin, TX)를 사용하여 3.12 μM의 [α -³²P]CTP(800 Ci/mmol, Amersham)를 포함하는 20 μl의 반응 혼합액으로부터 제조사의 지침에 따라 상기 *Bam*HI-선형화된 pGEM3zf(+)/JV9143 클론을 전사시켰다. DNase I을 처리한 후, 전사반응에 포함되지 않은(unincorporated) 리보뉴클레오사이드 트리포스페이트를 제거하기 위하여 반응 혼합액을 Quick Spin G-50 세파텍스 칼럼(Boehringer mannheim)에 적용시켰다.] 배양 용액[5×SSPE(0.9 M NaCl, 50 mM NaH₂PO₄ 및 5 mM EDTA pH 7.7), 5×Denhardt's 시약, 0.5% SDS, 100 μg/ml의 변성된 연어 정충 DNA, 50% 포름아마이드]에서 55°C에서 6시간 동안 막을 전배양시킨 후, 1×10⁷ cpm의 표지된 리보프로브를 포함하는 배양 용액에서 55°C에서 밤새

배양시켰다. 1×SSPE, 0.5% SDS를 사용하여 55°C에서 10분간 세 차례 막을 세척한 후, 0.1×SSPE, 0.5% SDS를 사용하여 10분간 한차례 세척하였다. 바이러스 RNA 밴드를 자가방사선사진(autoradiography)으로 시각화시킨 후, Molecular Imager(Bio-Rad Lab)를 이용하여 정량하였다. 그 결과, 모든 경우에 있어서 바이러스 RNA의 발현 정도가 유사하였다(도 5의 D). 상기 블롯을 이미지 분석기로 정량한 결과 바이러스 게놈 RNA(도 5의 D, 위 패널)와 18S rRNA(도 5의 D, 아래 패널)의 비율이 의미있는 정도로 다르지는 않았으며, 이러한 사실로부터 모든 경우에 바이러스 게놈 RNA가 유사한 정도로 발현된다는 것을 확인하였다.

<138> 상기의 결과로부터, 감염성이 있는 JEV cDNA(pBAC^{SP6}/JVFL/XbaI, pBAC^{SP6}/JVFLx/XbaI, pBAC^{SP6}/JVFLx/XbaI, 및 pBAC^{SP6}/JVFLx/XbaI^{MBN}) 주형으로부터 얻어진 합성 JEV 바이러스는 플라크 형태, cytopathogenicity, 바이러스 성장 패턴, 바이러스 단백질의 합성, 및 바이러스 게놈 RNA의 합성의 관점에서 모 바이러스 CNU/LP2와 구별할 수 없었으며, 상기 결과로부터 본 발명의 감염성이 있는 JEV cDNA 클론을 분자 유전학적 용도로 사용할 수 있음을 확인하였다.

<139> <실시예 7> 모 바이러스(parental virus)의 오염 여부 확인

<140> 상기의 결과들은 JEV cDNA 클론이 SP6 또는 T7 폴리머라제에 의한 전사 후에 높은 감염성을 가진 합성 RNA 전사체를 생산할 수 있다는 것을 강하게 제시하지만, 형질전환된 배양액이 모 바이러스 CNU/LP2에 오염되었을 가능성을 완전히 배제할 수 없다. 따라서, 그러한 가능성은 완전히 배제하기 위하여 본 발명자들은 유전자 마커(genetic marker, gm)를 pBAC^{SP6}/JVFLx/

*Xba*I 벡터에 도입하기 위하여 PCR을 이용한 위치 지정 돌연변이(site-directed mutagenesis)를 실시하였다. PCR에 의한 위치 지정 돌연변이(site-directed mutagenesis) 유도에 의하여 pBAC^{SP6}/JVFLx/*Xba*I에 존재하는 NS5 유전자 내부에 점 돌연변이 A⁸¹⁷¹ → C(silence)를 도입하여 pBAC^{SP6}/JVFLx/gm/*Xba*I을 제조하였다(도 6의 A 참조). 점 돌연변이에 의하여 NS5 유전자 내부에 새로운 *Xho*I 제한효소 인식 부위가 생성된다. 먼저, A⁸¹⁷¹ → C 치환에 의하여 *Xho*I 인식 부위가 생성되는 서열번호 29로 기재되는 프라이머 J48 및 서열번호 30으로 기재되는 프라이머 J3을 사용하여 PCR에 의하여 pBAC^{SP6}/JVFLx/*Xba*I 유래의 절편을 제조하였다. 그 결과 생성된 앰플리콘의 665 bp *Mlu*I-*Apa*I 절편을 pBAC^{SP6}/JVFLx/*Xba*I의 4,802 bp *Apa*I-*Bsr*GI 절편 및 5,874 bp *Bsr*GI- *Mlu*I 절편과 함께 접합시켜 pBAC^{SP6}/JVFLx/gm/*Xba*I을 제조하였다. *Xba*I-선형화되고 MBN-처리된 pBAC^{SP6}/JVFLx/gm/*Xba*I^{MBN}으로부터 합성된 RNA 전사체로 형질전환된 BHK-21 세포는 유전자 마커를 포함하는 감염성이 있는 합성 JEV 바이러스(JVFLx/gm/*Xba*I^{MBN}으로 표기)를 생산하였다(도 6의 A). JVFLx/gm/*Xba*I^{MBN}의 표현형적 특성은 최초의 바이러스 JVFLx/*Xba*I^{MBN}의 경우와 다르지 않았는데, 이것은 A⁸¹⁷¹ → C 치환이 바이러스 자가복제에 영향을 미치지 않았음을 나타낸다.

<141> JVFLx/gm/*Xba*I^{MBN} 바이러스가 pBAC^{SP6}/JVFLx/gm/*Xba*I^{MBN}의 cDNA 주형으로부터 유래된 것임을 증명하기 위하여, 본 발명자들은 BHK-21 세포에서 생산된 바이러스를 0.1 MOI로 순차적으로 계대배양하였다. 각각의 계대배양에서 얻은 바이러스는 입력(input) RNA 전사체와 주형 cDNA 플라스미드의 오염을 피하기 위하여 RNase A 및 DNase I을 각각 처리한 후 계대배양하였다 (Mendez et al.,

J. Virol., 1998, 72, 4737-4745). A⁸¹⁷¹ → C 치환을 포함하는 2,580 bp PCR 산물을 증폭하기 위하여, 1 및 3 계대배양에서 방출된 JVFLx/gm/XbaI^{MBN} 및 JVFLx/XbaI^{MBN} 바이러스로부터 추출된 바이러스 RNA를 RT-PCR에 사용하였다(도 6의 B, 레인 1, 3 및 5). JVFLx/gm/XbaI^{MBN}으로부터 증폭된 RT-PCR 산물을 *Xba*I으로 처리했을 경우 1,506 bp 및 1,074 bp의 두 개의 절편이 생성되었다(도 6의 B, 레인 2 및 4). 반면에, JVFLx/XbaI^{MBN}으로부터 증폭된 RT-PCR 산물은 I 에 의해서 절단되지 않았다(도 6의 B, 레인 5 및 레인 6 비교). 상기 결과는 A⁸¹⁷¹ → C 치환이 실제로 JVFLx/gm/XbaI^{MBN} 바이러스 RNA에 존재한다는 것을 의미한다. 따라서, 본 발명자들은 합성된 JVFLx/gm/XbaI^{MBN} 바이러스는 전체-길이의 감염성이 있는 JEV cDNA pBACSP6/JVFLx/gm/XbaI^{MBN}으로부터 유래된 것임을 확인하였다.

<142> <실시예 8> 전체-길이의 감염성이 있는 JEV cDNA의 유전학적 안정성 분석

<143> 이전의 전체-길이의 JEV cDNA를 합성하려는 연구에서는 구조 단백질 prM 및 E를 코딩하는 부위에서 종종 난센스(nonsense) 돌연변이가 발생한다는 것이 보고된 바 있다(Sumiyoshi et al., *J. Virol.*, 1992, 66, 5425-5431). JEV에 대한 분자 생물학적 연구에는 신뢰할 수 있는 감염성이 있는 JEV cDNA 클론이 필수적으로 요구되기 때문에, 본 발명자들은 pBACSP6/pJVFLx/XbaI의 유전학적 안정성에 관해서 심도있게 분석하였다.

<144> 구체적으로, 감염성이 있는 JEV cDNA의 유전자 구조 및 기능을 하기와 같이 분석하였다.

E. coli DH10B 균주를 pBAC^{SP6}/JVFLx/*Xba*I으로 형질전환 시킨 후, 독립적으로 유래된 두 개의 클론을 12.5 µg/ml의 클로람페니콜을 포함하는 10 ml의 2xYT 배양액에 접종한 후 37°C에서 밤새 배양하였다. 상기 일차 배양 세포들을 매일 10⁶배씩 희석시키면서 9일간 유지시켰다 (Almazan et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2000, 97, 5516-5521). 본 발명의 실험 조건에서, 각각의 계대배양은 약 20세대를 나타내며, 이것은 이전 보고에서 관찰된 것과 부합된다 (Alamzan et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2000, 97, 5516-5521). 0번, 3번, 6번 및 9번의 계대배양 후에, SDS-알칼라인(alkaline) 방법에 의하여 큰 규모(large-scale)의 감염성이 있는 cDNA 플라스미드를 DH10B로부터 분리하였고, 세시움 클로라이드 밀도 경사 원심분리 (cesium chloride density gradient centrifugation)로 플라스미드를 정제하였다(Sambrook et al., *Molecular cloning*, 1989, Cold Spring Harbor Laboratory). 플라스미드 DNA의 유전자 구조를 제한효소 인식 부위 패턴에 의하여 조사하였다. 0번, 3번, 6번 및 9번의 계대배양 후에 분리 정제된 플라스미드를 제한효소 분석으로 플라스미드의 유전자 구조를 조사하였다. 3, 6, 및 9번 계대배양에서의 제한효소 패턴은 0번 계대배양시와 비교하였을 때 시각적으로는 차이가 나지 않았다. 따라서, 아가로즈 젤 전기영동 분석의 해상도 범위 내에서, 두 가지 감염성이 있는 cDNA 클론은 구조적으로 안정한 것으로 보인다.

<145> 또한, *Xba*I 절단 및 녹두 뉴클레아제(MBN) 처리에 의하여 선형화된 cDNA 주형으로부터 전사된 합성 RNA 전사체의 특이적 감염성(specific infectivity)을 측정함으로써 계대배양된 JEV cDNA 플라스미드의 유전학적 안정성을 기능적인 측면에서 분석하였다. 그 결과, 두 개의 독립적으로 분리 및 정제된 cDNA로부터 제조된 RNA 전사체의 특이적 감염성은 0번 계대배양과 9번 계대배양사이에서 큰 차이를 보이지 않았다(

도 7). 상기 결과로부터, 감염성이 있는 JEV cDNA는 *E. coli*에서의 계대배양 과정에서 구조적 및 기능적으로 안정하게 유지되고 있음을 확인하였다.

<146> <실시예 9> 감염성이 있는 JEV cDNA를 이형 유전자의 발현을 위한 벡터로의 응용

<147> 이전에 보고된 바와 같이(Burke and Monath, *Flaviviruses*, 2001, 1043-1125,

Lippincott Williams&Wilkins Publishers), 본 발명자들은 JEV는 인간, 마우스, 원숭이, 돼지, 개, 고양이 및 햄스터를 포함하는 다양한 종류의 세포에서 자가복제될 수 있음을 발견하였다. 상기 결과는 JEV가 다양한 종류의 세포에서 이형 유전자의 발현을 위한 벡터로 유용하게 사용될 수 있음을 의미한다. 이를 테스트하기 위하여, pBAC^{SP6}/JVFLx/*Xba*I상의 바이러스 3' NTR 시작 부위에 일반적으로 사용되는 리포터 유전자인 *Aequorea victoria* GFP(green fluorescent protein) 및 *Photinus pyralis* LUC(luciferase)을 EMCV IRES(internal ribosome entry site of encephalomyocarditis virus) element와 함께 삽입시켰다(도 8의 A 참조).

<148> 이를 위하여, 먼저 pBAC^{SP6}/JVFLx/GFP/*Xba*I(도 8의 A 참조)을 제조하기 위하여, pBAC^{SP6}/JVFLx/*Xba*I 유래의 절편을 서열번호 31로 기재되는 프라이머 J72 및 서열번호 32로 기재되는 프라이머 J73을 사용한 PCR에 의하여 증폭시켰다. 또한, 서열번호 33으로 기재되는 프라이머 J74 및 서열번호 34로 기재되는 프라이머 J75를 사용하여 pRSGFP-C1의 절편을 증폭하였다. J72 및 J75 프라이머를 사용한 PCR에 의하여 상기 두 가지 절편을 융합시켰다. 그 결과 생성된 앰플리콘의 913 bp *Kpn*I-*Nsi*I 절편을 pBAC^{SP6}/JVFLx/*Xba*I의 8,011 bp *Nsi*I-*Pac*I 및 11,021 bp *Pac*I-*Kpn*I 절편에 접합시켜 pBAC^{SP6}/JVFLx/GFP/*Xba*I을 제조하였다.

<149> 다음으로, pBACSP6/JVFLx/LUC/XbaI(도 8의 A 참조)을 제조하기 위하여, pBACSP6/JVFLx/XbaI 유래의 절편을 프라이머 J72 및 서열번호 35로 기재되는 프라이머 J76을 사용한 PCR에 의하여 증폭시켰다. 또한, 서열번호 36으로 기재되는 프라이머 J77 및 서열번호 37로 기재되는 프라이머 J78을 사용하여 pACNR/NADLcIn⁻/LUC(Charles M. Rice로부터 받음)의 절편을 증폭하였다. J72 및 J78 프라이머를 사용한 PCR에 의하여 상기 두 가지 절편을 융합시켰다. 그 결과 생성된 앰플리콘의 1,801 bp *Kpn*I-*Nsi*I 절편을 pBACSP6/JVFLx/XbaI의 8,011 bp *Nsi*I-*Pac*I 및 11,021 bp *Pac*I-*Kpn*I 절편에 접합시켜 pBACSP6/JVFLx/LUC/XbaI을 제조하였다.

<150> NS3 유전자의 가운데 부분에 83개의 5,580-5,663 뉴클레오타이드가 결실되어 5,596 뉴클레오타이드에서 바이러스 번역이 조기종결(pretermination)되는 pBACSP6/JVFLx/LUC^{REP-}/XbaI 벡터(도 8의 A 참조)를 제조하기 위하여, pBACSP6/JVFLx/LUC/XbaI 절편을 서열번호 38로 기재되는 프라이머 J90 및 서열번호 39로 기재되는 프라이머 J91을 사용하여 PCR에 의하여 증폭시켰다. 또한, 서열번호 40으로 기재되는 프라이머 J92 및 서열번호 41로 기재되는 프라이머 J93을 사용하여 pBACSP6/JVFLx/LUC/XbaI의 절편을 증폭하였다. J90 및 J93 프라이머를 사용한 PCR에 의하여 상기 두 가지 절편을 융합시켰다. 그 결과 생성된 앰플리콘의 3,960 bp *Sfi*I-*Eag*I 절편을 pBACSP6/JVFLx/LUC/XbaI의 6,493 bp *Eag*I-*Sfi*I 및 10,297 bp *Sfi*I-*Sfi*I 절편에 접합시켜 pBACSP6/JVFLx/LUC^{REP-}/XbaI 을 제조하였다.

<151> CNU/LP2 뿐만 아니라 전체 서열이 밝혀진 세 개의 JEV 바이러스주(Williams et al., *J. Gen. Virol.*, 2000, 81, 2471-2480; Nam et al., *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 2001, 65, 388-392; Jan et al., *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1996, 55, 603-609)에서, 9-25 bp의 작은 결실이 바이러스 3'NTR 시작부위에서 관찰되었는데, 이것은 상기 부위가 이형 유전자를 삽입시키기 위한 좋은 부위가 될 수 있음을 제시한다. 따라서, 상기와 같이 합성된 pBACSP6/JVFLx/GFP/XbaI와

pBAC^{SP6}/JVFLx/LUC/*Xba*I cDNA를 주형으로해서 만들어진 합성 RNA 전사체를 BHK-21 세포에 형질 전환시켰을 때, 이형 유전자의 삽입으로 인해서 합성 RNA 전사체의 특이적 감염성이 변화하지는 않았다.

<152> GFP 발현을 조사하기 위하여, pBAC^{SP6}/JVFLx/GFP/*Xba*I^{MBN} cDNA 주형에서 전사된 감염성이 있는 합성 RNA 전사체를 순수한(naive) BHK-21 세포에 형질전환시킨 후, 동초점 현미경으로 조사하였다. 구체적으로, BHK-21 세포를 목-형질전환(mock-transfection)시키거나 또는 2 μ g의 JVFLx/GFP/*Xba*I^{MBN} RNA를 사용하여 형질전환시켰다. 1×10^5 의 형질전환된 세포를 4-웰 챔버 슬라이드에서 30시간 동안 배양시켰다. PBS를 사용하여 세포를 두차례 세척한 후 0.37%(v/v) 포름알데하이드(formaldehyde)가 첨가된 PBS에 25°C에서 30분간 배양시켜 고정하였고, 0.2 ml의 80% 글리세롤로 마운팅을 실시하였다. 마운팅된 세포는 동초점 현미경으로 관찰하였다. 그 결과, GFP는 핵과 세포질 사이에 확산될 수 있을 정도로 충분히 작기 때문에(약 30 kDa), GFP를 발현하는 세포는 핵과 세포질 모두에서 초록색 형광이 나타났다(도 8의 B, JVFLx/GFP/*Xba*I^{MBN}). 예상된 바와 같이, 이러한 형광은 목-형질전환된 세포뿐만 아니라 pBAC^{SP6}/JVFLx/*Xba*I^{MBN} 유래의 RNA 전사체로 형질전환된 세포에서는 관찰이 되지 않았다(도 8의 B, Mock).

<153> 시간에 따른 LUC의 유도(induction)를 정량적으로 분석하기 위하여, 본 발명자들은 pBAC^{SP6}/JVFLx/LUC/

$XbaI^{MBN}$ 유래의 복제-수용성(replication-competent) RNA 전사체 뿐만 아니라, pBAC^{SP6}/JVFLx/LUC^{REP-}/ $XbaI^{MBN}$ 유래의 복제-비수용성(replication-incompetent) RNA 전사체도 제조하였다(도 8의 A). pBAC^{SP6}/JVFLx/LUC^{REP-}/ $XbaI^{MBN}$ 주형은 NS3 유전자의 가운데 부위인 뉴클레오파이드 5,581-5,663에 83개 뉴클레오파이드가 결실되어있다. 따라서 뉴클레오파이드 5,596에서 바이러스의 번역이 미리종결(pretermination) 됨으로 바이러스 RNA의 자가복제가 일어나지 않는다(도 8의 A의 * 참조, pBAC^{SP6}/JVFLx/LUC^{REP-}/ $XbaI^{MBN}$).

<154> pBAC^{SP6}/JVFLx/LUC/ $XbaI^{MBN}$ 상의 바이러스 cDNA에 엔지니어링된 LUC 유전자로부터 발현되어지는 루시퍼라제 양을 분석하기 위해서, 8×10^6 의 BHK-21 세포를 목-형질전환(mock-transfection)시키거나, 2 μ g의 JVFLx/LUC/ $XbaI^{MBN}$ RNA 또는 JVFLx/LUC^{REP-}/ $XbaI^{MBN}$ RNA로 형질전환시켰다. 6×10^5 세포/웰의 농도로 세포를 6-웰 플레이트에 분주한 후 배양하였다. 정해진 시점에서, Ca^{2+} 및 Mg^{2+} 가 제거된 PBS 용액으로 세포를 세척한 후 0.2 ml의 용해 버퍼[25 mM Tris-phosphate pH 7.8, 2 mM DTT, 2 mM 1,2-diaminocyclohexane-N,N,N',N'-tetraacetic acid, 10% glycerol, 1% Triton X-100(v/v)]를 각각의 웰에 첨가시켜 세포를 용해시켰다. 세포 용해물(lysate)을 실온에서 10분간 배양시킨 후, 세포 침전물(debris)을 원심분리로 제거하였다. 상동액을 신속하게 -80°C에 보관하였다. 루시퍼라제 활성을 측정하기 위하여, 20 μ l의 세포 용해물을 100 μ l의 루시퍼라제 분석 시약[20 mM Tricine, 1.07 mM(MgCO₃)₄Mg(OH)₂·5H₂O, 2.67 mM MgSO₄, 0.1 mM EDTA, 33.3 mM DTT, 270 μ M coenzyme A, 470 μ M luciferin(Promega), 530 μ M ATP]이 포함되어 있는 발광측정기(luminometer) 튜브에 위치시켰다(placed). 루시퍼라제 활성은 10 초간 측정하였다. 각각의 데이터는 세 번의 독립적인 실험의 결과를 나타낸다.

<155> 그 결과, 복제-수용성 JVFLx/LUC/*Xba*I^{MBN} RNA로 형질전환된 BHK-21 세포에서는(도 8의 C, 검은 원), 형질전환후 6시간에 최초 루시퍼라제 활성이 $2.4 \pm 0.2 \times 10^3$ RLU(relative light units) 이었다. 이러한 활성은 형질전환후 30시간에 $5.3 \pm 0.1 \times 10^4$ RLU로 극적으로 증가되었으며, 형질전환후 54시간에는 $7.8 \pm 0.1 \times 10^5$ RLU에 이르렀고, 이 시점에서 >50%의 세포가 죽었다. 반면에, 복제-비수용성 JVFLx/LUC^{REP-}/*Xba*I^{MBN} RNA로 형질전환된 BHK-21 세포에서는, 형질전환 후 6시간에 최초 루시퍼라제 활성이 $1.9 \pm 0.4 \times 10^3$ RLU로서(도 8의 C, 흰 원) JVFLx/LUC/*Xba*I^{MBN}-로 형질전환된 세포의 경우와 유사하였으나(도 8의 C, 검은 원 참조), 시간이 경과함에 따라 활성이 점진적으로 감소하여 형질전환후 54시간에는 16.2 RLU로 감소하였다. 이러한 수치는 순수한(naive) 세포의 배경(background) 루시퍼라제 활성 수준이다(도 8의 C, 흰 원). 따라서, 시간에 따라 발현되는 루시퍼라제 활성의 정도는 바이러스 복제의 유무에 따라 다르게 나타난다.

<156> 또한, 본 발명자들은 상기에서 기술한 것과 같이 GFP와 LUC 유전자를 가진 전체-길이의 감염성이 있는 JEV cDNA로부터 합성한 JEV RNA 전사체를 BHK-21 세포내에 형질전환시킨 후, 배양상동액으로부터 GFP와 LUC 유전자를 포함한 재조합된 JVFLx/GFP/*Xba*I^{MBN} 및 JVFLx/LUC/*Xba*I^{MBN} JEV 바이러스를 제조하였다. 이렇게 생산된 재조합 JEV 바이러스(recombinant JEV)로부터 GFP와 LUC 유전자의 발현여부는 일반적으로 생명과학 및 의학분야에서 많이 사용되는 다양한 동물 세포주(BHK-21, Vero, NIH-3T3, ST, HeLa, MDCK, CRFK, B103, 및 SHSY-5Y)에 감염시킴으로써 관찰하였다. 그 결과, 바이러스 게놈 RNA에 삽입된 GFP 또는 LUC 유전자는 분석한 모든 종류의 세포에서 발현됨을 관찰할 수 있었다(표 4). 따라서, 재조합된 JEV cDNA, JEV RNA 전사체, 및 JEV 바이러스는 다양한 종류의 세포내에서 외래 이형 유전자의 발현을 위한 벡터로써 유용하게 사용될 수 있음을 확인하였다.

<157> 【표 4】

감염성이 있는 JEV cDNA상에 엔지니어링된 GFP 및 LUC 유전자의 발현		
감염에 사용된 세포주	GFP의 발현 ^a	LUC의 유도 ^b
BHK-21	발현됨	발현됨
Vero	발현됨	발현됨
HeLa	발현됨	발현됨
MDCK	발현됨	발현됨
CRFK	발현됨	발현됨
NIH-3T3	발현됨	발현됨
ST	발현됨	발현됨
B103	발현됨	발현됨
SHSY-5Y	발현됨	발현됨

<158> a : 재조합된 JEV 바이러스 JVFLx/GFP/XbaI^{MBN}으로 감염 후 GFP의 발현을 분석<159> b : 재조합된 JEV 바이러스 JVFLx/LUC/XbaI^{MBN}으로 감염 후 LUC의 발현을 분석

【발명의 효과】

<160> 상기에서 살펴본 바와 같이, 본 발명의 JEV 게놈 RNA의 완전한 뉴클레오파이드 염기서열 분석 및 이로부터 합성한 전체-길이의 감염성이 있는 JEV cDNA는 첫째 신경침입성(neurovirulence) 및 병원성(pathogenesis)에 관여하는 JEV 유전자를 동정하는 것뿐만 아니라, 둘째 JEV의 자가복제(replication), 전사(transcription), 및 번역(translation)에 관련된 분자생물학적인 메카니즘의 연구에 사용될 수 있으며, 셋째 포유동물세포를 포함한 다양한 종류의 세포들에서 이형 유전자의 발현을 위해서 필요한 새로운 유전자 발현벡터(gene expression vector)로 사용될 수 있으며, 마지막으로 상기 cDNA로부터 만들어진 여러 형태의 치료제, 치료용백신과 예방용백신, 진단시약, 및 진단용 기구등의 개발에도 유용하게 사용될 수 있다.

【특허청구범위】

【청구항 1】

5'-비번역 부위, 일본뇌염바이러스(Japanese encephalitis virus; JEV) 폴리펩타이드 코딩 부위, 및 3'-비번역 부위로 구성되는 한국형 JEV 게놈 RNA.

【청구항 2】

제 1항에 있어서, 게놈 RNA의 전체 길이는 10,968 bp이며, 95 bp로 이루어진 5'-비번역 부위, 10,299 bp로 이루어진 폴리펩타이드 코딩 부위, 및 574 bp로 이루어진 3'-비번역 부위로 구성되는 것을 특징으로 하는 한국형 JEV 게놈 RNA.

【청구항 3】

제 1항에 있어서, 서열번호 15로 기재되는 것을 특징으로 하는 한국형 JEV 게놈 RNA.

【청구항 4】

제 3항에 있어서, 서열번호 15로 기재되는 JEV 게놈 RNA와 98% 이상의 상동성이 있는 것을 특징으로 하는 JEV 게놈 RNA.

【청구항 5】

제 1항에 있어서, 5'-말단부위 염기서열은 $^1\text{AGAAGT}$ -인 것을 특징으로 하는 JEV 게놈 RNA.

【청구항 6】

제 1항에 있어서, 3'-말단부위 염기서열은 -GATCT¹⁰⁹⁶⁸ 인 것을 특징으로 하는 JEV 게놈 RNA.

【청구항 7】

제 1항의 전체-길이의 JEV 게놈 RNA에 대한 감염성이 있는 JEV cDNA.

【청구항 8】

제 7항에 있어서, 상기 cDNA는 JEV 게놈 RNA의 5'-말단 앞에 프로모터를 포함하고, JEV 게놈 RNA의 3'-말단 바로 뒤에 런-오프 자리로써 제한효소 인식 염기서열 부위를 포함하는 것을 특징으로 하는 JEV cDNA.

【청구항 9】

제 8항에 있어서, 상기 프로모터는 SP6 또는 T7 프로모터인 것을 특징으로 하는 JEV cDNA.

【청구항 10】

제 8항에 있어서, 상기 제한효소 인식 염기서열 부위는 JEV 바이러스 게놈 RNA에 존재하지 않는 염기서열인 것을 특징으로 하는 JEV cDNA.

【청구항 11】

제 8항에 있어서, 상기 제한효소 인식 염기서열 부위는 *Xho*I 또는 *Xba*I인 것을 특징으로 하는 JEV cDNA.

【청구항 12】

제 8항에 있어서, SP6 프로모터를 가지며 서열번호 43, 서열번호 44, 및 서열번호 45로 기재되는 염기서열과 T7 프로모터를 가지며 서열번호 46, 서열번호 47, 및 서열번호 48로 기재되는 염기서열로 구성된 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 JEV cDNA.

【청구항 13】

제 7항의 전체-길이의 JEV 게놈 RNA에 대한 cDNA를 포함하는 백터.

【청구항 14】

제 13항에 있어서, BAC(bacterial artificial chromosome)을 모백터로 사용하는 것을 특징으로 하는 백터.

【청구항 15】

제 13항에 있어서, 상기 벡터는 SP6 프로모터를 가지며 서열번호 43, 서열번호 44, 및 서열번호 45로 기재되는 JEV cDNA를 포함하는 pBAC^{SP6}/JVFL/XhoI, pBAC^{SP6}/JVFLx/XhoI, pBAC^{SP6}/JVFLx/XbaI 및 T7 프로모터를 가지며 서열번호 46, 서열번호 47, 및 서열번호 48로 기재되는 JEV cDNA를 포함하는 pBAC^{T7}/JVFL/XhoI, pBAC^{T7}/JVFLx/XhoI, pBAC^{T7}/JVFLx/XbaI으로 구성된 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 벡터.

【청구항 16】

제 15항에 있어서, 상기 벡터는 T7 프로모터를 가지는 pBAC^{T7}/JVFLx/XbaI인 것을 특징으로 하는 벡터(수탁번호 ; KCTC 10346BP).

【청구항 17】

제 15항에 있어서, 상기 벡터는 SP6 프로모터를 가지는 pBAC^{SP6}/JVFLx/XbaI인 것을 특징으로 하는 벡터(수탁번호 ; KCTC 10347BP).

【청구항 18】

제 13항의 벡터로부터 합성된 감염성이 있는 JEV RNA 전사체.

【청구항 19】

제 18항에 있어서, 3'-말단에 바이러스와 연관되지 아니하는 뉴클레오파이드를 제거한 것을 특징으로 하는 감염성이 있는 JEV RNA 전사체.

【청구항 20】

제 19항에 있어서, 녹두 뉴클레아제로 처리함으로써 바이러스와 연관되지 아니하는 뉴클레오파이드를 제거한 것을 특징으로 하는 감염성이 있는 JEV RNA 전사체.

【청구항 21】

제 18항의 JEV RNA 전사체로 형질전환된 형질전환체.

【청구항 22】

제 21항의 형질전환체를 배양하여 얻어지는 합성된 JEV 바이러스(synthetic JEV).

【청구항 23】

제 22항에 있어서, JEV cDNA 상에 돌연변이를 도입함으로써 돌연변이를 갖는 것을 특징으로 하는 합성된 JEV 바이러스.

【청구항 24】

- 1) 제 13항의 JEV cDNA 벡터에 이형 유전자를 삽입시켜 재조합된 JEV cDNA 발현 벡터를 제조하는 단계;
- 2) 상기 재조합된 JEV cDNA 발현벡터로부터 JEV RNA 전사체를 제조하는 단계;
- 3) 상기 JEV RNA 전사체를 숙주세포에 형질전환시켜 형질전환체를 제조하는 단계;
- 4) 형질전환체를 배양하여 외래 단백질을 발현시키는 단계로 구성되는 JEV cDNA를 이용하여 이형 유전자를 발현시키는 방법.

【청구항 25】

제 24항에 있어서, 외래 단백질의 유전자를 JEV 전체-길이의 감염성이 있는 cDNA상의 JEV 3'NTR 시작부위에 삽입하여 제조하는 것을 특징으로 하는 방법.

【청구항 26】

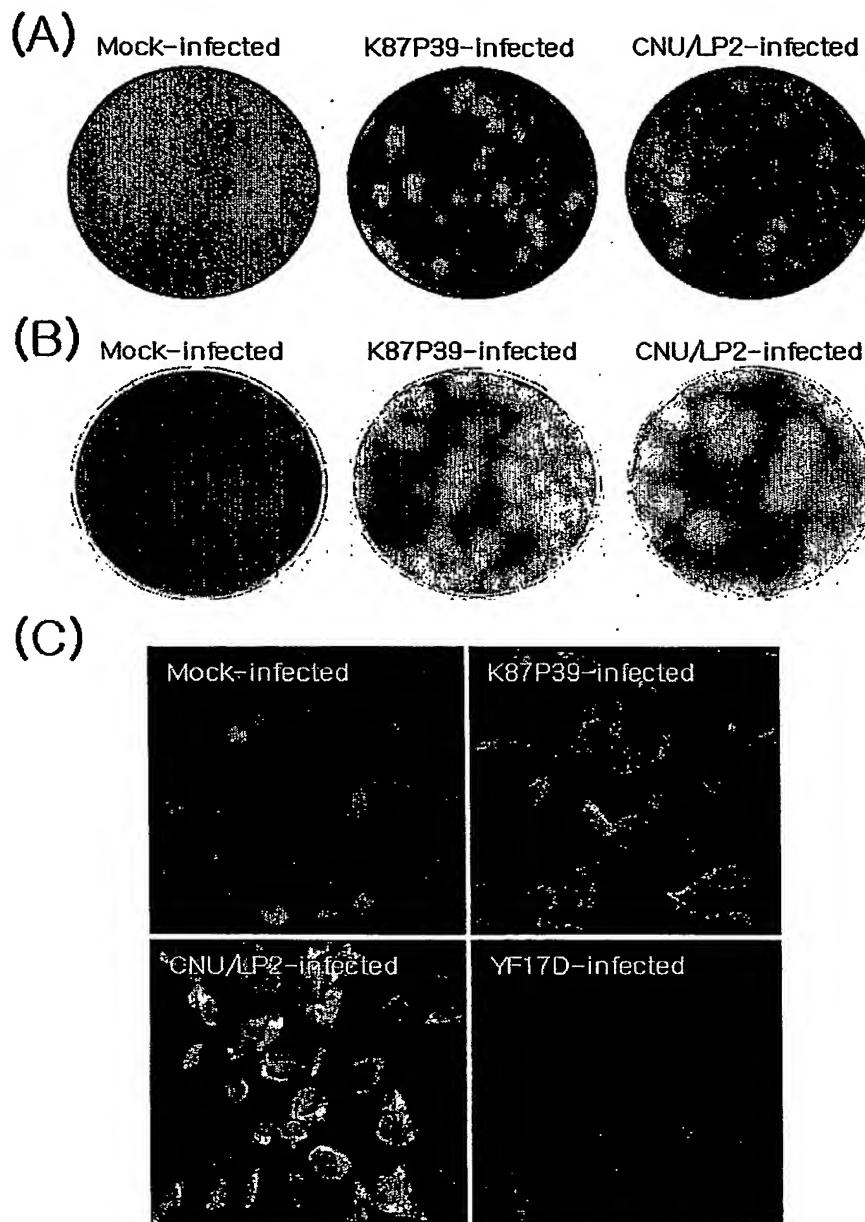
JEV 게놈 RNA 또는 JEV cDNA로부터 유래된 요소를 포함하는 JEV에 대한 진단 시약.

【청구항 27】

JEV 게놈 RNA 또는 JEV cDNA로부터 유래된 요소를 포함하는 항-JEV 바이러스 백신.

【도면】

【도 1】

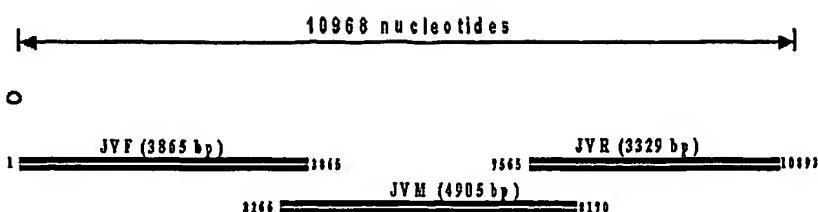


1020 1589

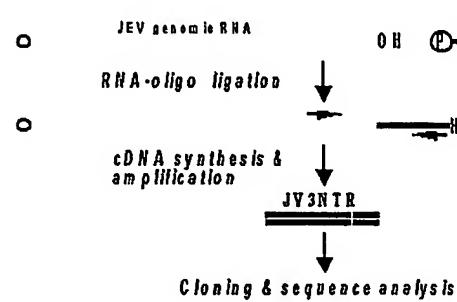
출력 일자: 2003/10/17

【도 2】

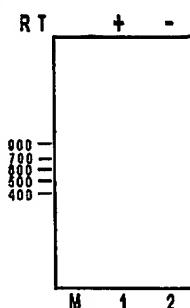
(A)



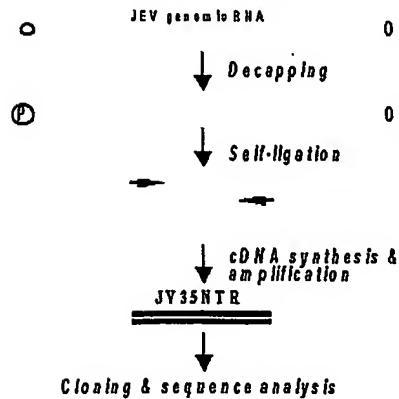
(B)



(C)



(D)

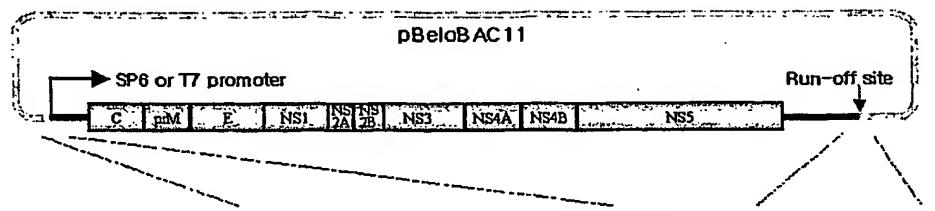


(E)



【도 3】

(A)



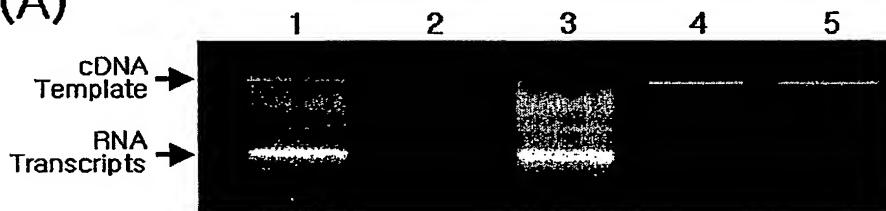
(B)

SP6 promoter...TATAG	<i>Transcription</i>	<i>aggatct CGAG</i>
SP6 promoter...TATAG		<i>aggatct CGAG</i>
SP6 promoter...TATAG		<i>aggatct CTAGA</i>
SP6 promoter...TATAG		<i>aggatct</i>

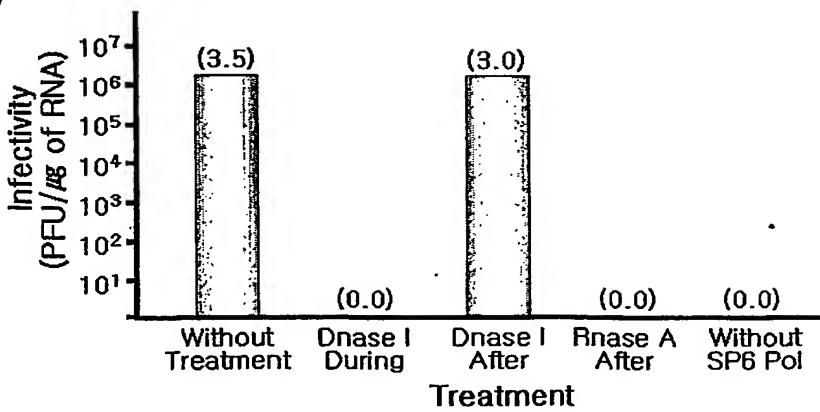
T7 promoter...TATAG	<i>Transcription</i>	<i>aggatct CGAG</i>
T7 promoter...TATAG		<i>aggatct CGAG</i>
T7 promoter...TATAG		<i>aggatct CTAGA</i>
T7 promoter...TATAG		<i>aggatct</i>

【도 4】

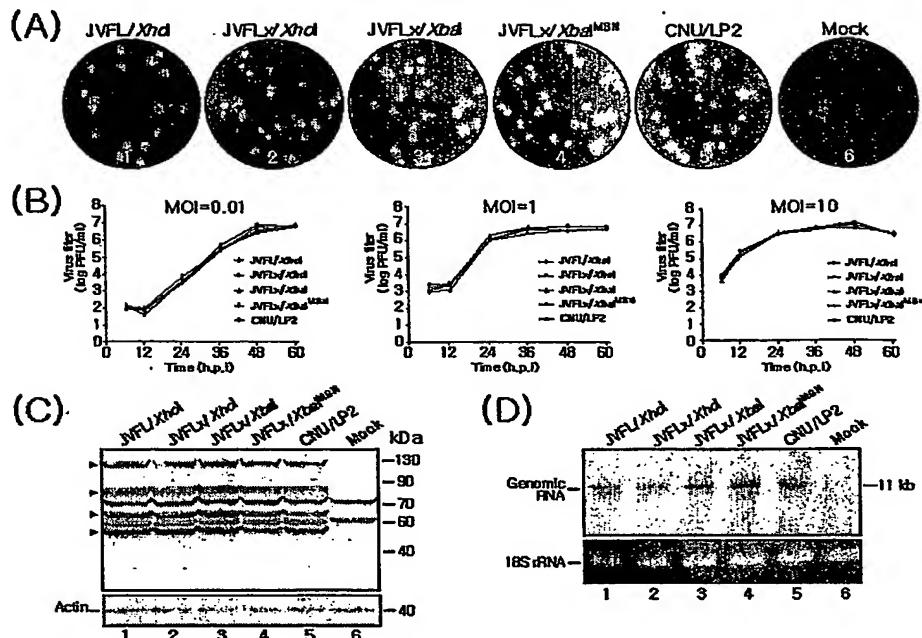
(A)



(B)

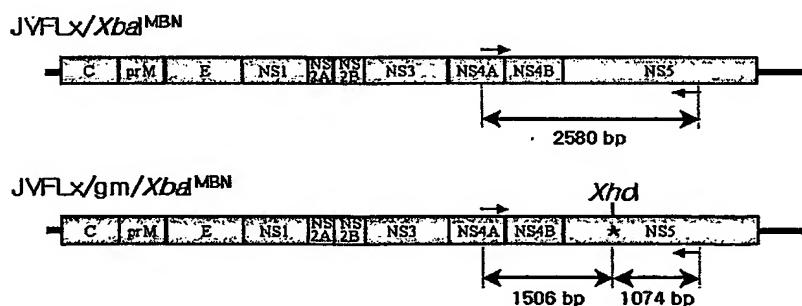


【도 5】

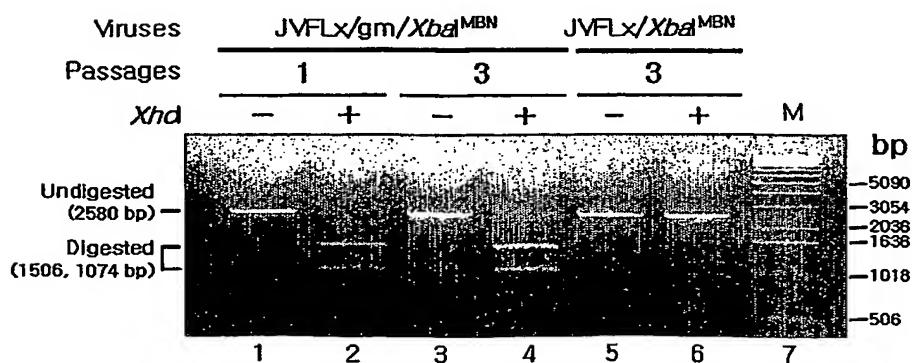


【도 6】

(A)



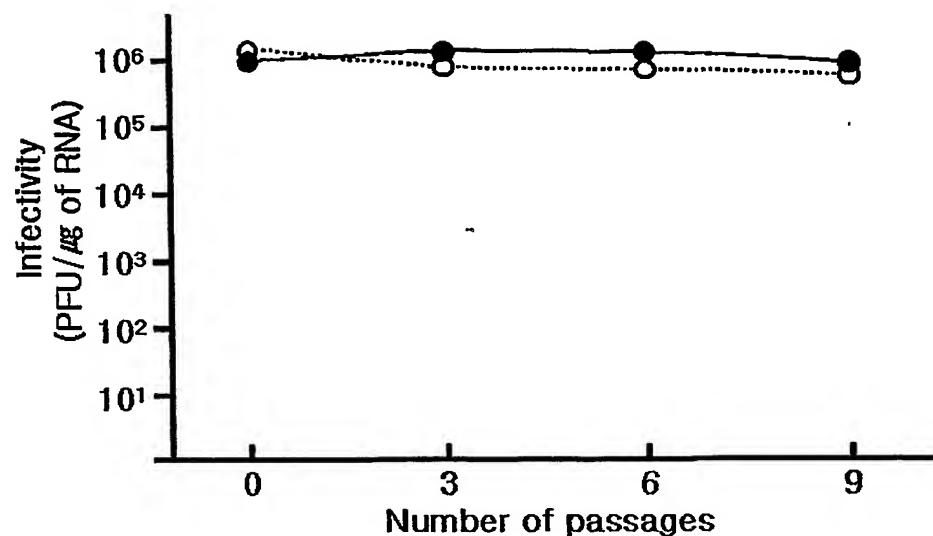
(B)



10200 01589

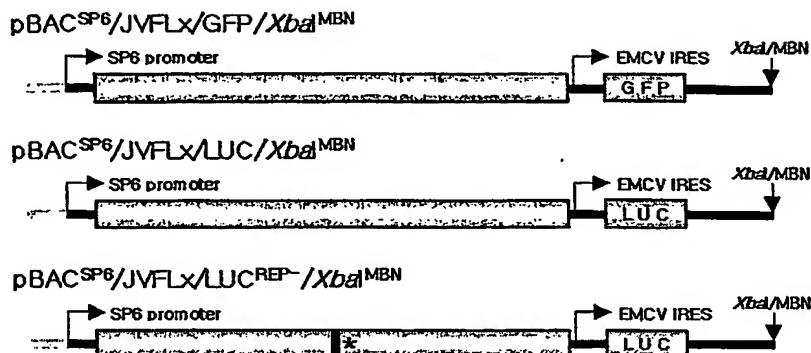
출력 일자: 2003/10/17

【도 7】

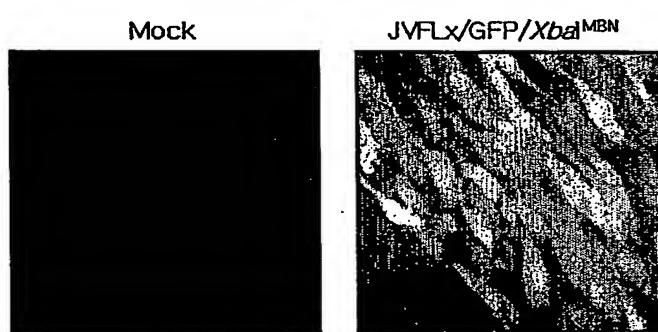


【도 8】

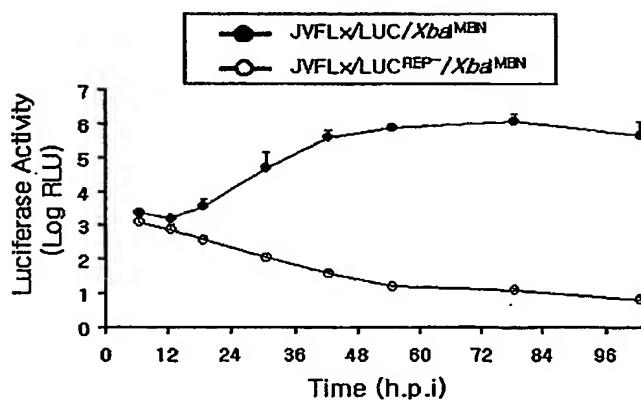
(A)



(B)



(C)



【서열목록】

- <110> LEE, Young-Min <120> Novel full-length genomic RNA for Japanese encephalitis virus and infectious JEV cDNA therefrom <130> 2p-07-10B
- <160> 48 <170> KopotentIn 1.71 <210> 1 <211> 18 <212> DNA <213>

Artificial Sequence <220> <223> primer J7, complementary to nt 3986-4003 of the JEV genome <400> 1 agcgctaaga ctggcatg

18 <210> 2 <211> 28 <212> DNA <213> Artificial Sequence <220> <223> primer J8, complementary to nt 1-18 of the JEV genome <400> 2 gatcggaccg agaagtttat ctgtgtga 28 <210> 3 <211>

21 <212> DNA <213> Artificial Sequence <220> <223> primer J6, complementary to nt 3845-3865 of the JEV genome <400> 3 gcccctagga ccagaaccac g

21 <210> 4 <211> 21 <212> DNA <213> Artificial Sequence <220> <223> primer J4, complementary to nt 8150-8170 of the JEV genome <400> 4 aggacgcgta gtgtgcgttg t 21 <210> 5 <211>

18 <212> DNA <213> Artificial Sequence <220> <223> primer J20, complementary to nt 3266-3283 of the JEV genome <400> 5 aaaccaggga ccttggga

18 <210> 6 <211> 21 <212> DNA <213> Artificial Sequence <220> <223> primer J1, complementary to nt 10947-10967 of the JEV genome <400> 6 gatcctgtgt ttttcctcac c 21 <210> 7 <211>

27 <212> DNA <213> Artificial Sequence <220> <223> primer J12, complementary to nt 7565-7582 of the JEV genome <400> 7 gatcggaccg aattccacca cagccac

27 <210> 8 <211> 24 <212> DNA <213> Artificial Sequence <220> <223> primer J2, complementary to nt 10870-10893 of the JEV genome <400> 8 agaagatctc ccagtctatt ccca 24 <210> 9 <211>

10818 <212> DNA <213> Japanese encephalitis virus <400> 9 agagattagt

gcagtttaaa cagtttta gaacggaaga taaccatgac taaaaaacca	60 ggagggcccg
gtaaaaaccg ggctatatcaat atgctgaaac gcggcctacc ccgcgtattc	120 ccactagtgg
gagtgaagag ggttagtaatg agcttgttgg acggcagagg accagtacgt	180 ttctgtctgg
ctcttatcac gttcttcaag tttacagcat tagccccgac caaggcgctt	240 tttaggccat
ggaaaggcagt ggaaaagagt gtggcaatga aacatcttac tagttcaaa	300 cgagaacttg
gaacactcat tgacgccgtg aacaagcggg gcagaaagca aaacaaaaga	360 ggagggaaatg
aaggctcaat catgtggctc gcgagtttgg cagtgtcat agcttgttga	420 ggagccatga
agtgtcaaa ttccaaggg aagctttga tgaccattaa caacacggac	480 attgcagacg
tcatcgtgat tcctaccta aaaggagaga acagatgctg ggtccggca	540 atcgatgtcg
gctacatgtg tgaggacact atcacgtacg aatgtcctaa gcttaccatg	600 ggcaatgatc
cagaggatgt ggattgttgg tgtgacaacc aagaagtcta cgtccaatat	660 ggacggtgca
cgcggaccag gcattccaag cgaagcagga ggtccgtgtc ggtccaaaca	720 catggggaga
gttcaactgt gaataaaaaa gaggcttggc tggattcaac gaaagccaca	780 cgatatctca
tgaaaactga gaactggatc ataaggaatc ctggctatgc tttccctggcg	840 gcggtacttg
gctggatgct tggcagtaac aatggtcaac gcgtgggttt taccatctc	900 ctgctgttgg
tcgctccggc ttacagttt aattgtctgg gaatggcaa ccgtgacttc	960 atagaaggag
ccagtgaggc cacttgggtg gacttagtgc tagaaggaga tagctgttg	1020 acaatcatgg
caaacgacaa accaacattg gacgtccgca tgattaacat cgaaggcagc	1080 caacttgctg
aggtcagaag ctattgctat catgcttcag tcactgacat ctcgacggtg	1140 gctcggtgcc
ccacgactgg agaagcccac aacgagaagc gagctgatag tagctatgtg	1200 tgcaaacaag
gtttcaactga tcgtgggtgg ggcaacggat gtggacttt cgggaaaggga	1260 agcattgaca

catgtgcaaa attctcctgc accagtaagg cgattggag aacaatccag	1320 ccagaaaaca
tcaaatacga agttggcatt ttgtgcatg gaaccaccac ctggaaaaac	1380 catggaaatt
attcagcgca agtagggcgc tcccaggcgg caaagtttac agtaacaccc	1440 aatgctcctt
cgataaccct caaacttgtt gactacggag aagtacacact ggactgtgaa	1500 ccaaggagtg
gactgaacac tgaagcgtt tacgtcatga ccgtggggtc aaagtcattt	1560 ctggccata
ggaatggtt tcatgacctc gctctccct ggacgtcccc ttcgaggcaca	1620 gcgtggagaa
acagagaact cctcatggaa tttgaagagg cgcacgccac aaaacagtcc	1680 gttgtgctc
ttgggtcaca ggaaggaggc tcggatcagg cgctggcagg agccatcg	1740 gtggagta
caagctcagt gaagtttaca tcaggccacc tgaaatgtag gctgaaaatg	1800 gacaaactgg
ctctgaaagg cacaacctat ggcattgtta cagaaaaatt ctgttcg	1860 aaaaatccgg
cggacactgg ccacggaca gttgtcattt aactctccta ttctggagtt	1920 gatggccctt
gcaaaattcc gattgtctcc gttgcgagcc tcaatgacat gaccccg	1980 gggcggctgg
tgacagtgaa cccttcgtc gcgacttcca gtgcacactc aaagggtgt	2040 gtcgagatgg
aaccccccattt cggagactcc tacatcgtag ttggaaaggaggg agacaagcag	2100 atcaaccacc
atggcataa agctggaagc acgctggca aggcttttc aacaactttt	2160 aaggagctc
aaagactggc agcgttggc gacacagcct gggactttgg ctctatttgg	2220 ggggtttca
actccatagg aaaggccgtt caccaagtgt ttggtggcgc tttcagaaca	2280 ctctttgggg
aatgttttgc gatcacacaa gggtaatgg gtgcctact actctggatg	2340 ggcataacg
cacgagatcg atcaatttgc ttggccttct tggccacagg aggtgtgctc	2400 gtgttcttag
cgaccaatgt gcatgctgac actggatgtg ccattgacat cgcaagaaaa	2460 gagatgagat
gcggaaatgg catttcggtt cacaacgacg tggaaagcctg ggtggatagg	2520 tataaatatt

tgccagaaac gcccagatcc ctagcgaaga tcgtccacaa agcgacaaag	2580 gaaggcgtgt
' gcggagttag atctgtcaact agactggagc accaaatgtg ggaagccgtg	2640 cgggacgaat
tgaacgtcct gctcaaagag aatgcagtgg acctcagtgt gtttgtgaac	2700 aagccgtgg
ggagatatacg ctcagccccaa aacgcctgt ccatgacgca agagaagttt	2760 gaaatgggct
ggaaagcatg gggaaaaagc attctcttg ccccgaaatt ggctaactcc	2820 acatttgttg
tagatggacc tgagacaaag gaatgtcctg atgagcacag agcctggaac	2880 agcatgcaaa
tcgaagactt cggctttgggt atcacatcaa cccgtgtgtg gctgaagatt	2940 agagagggaaa
gcactgacga gtgtgatgga gcgatcatag gcacagctgt caaaggacat	3000 gtggcagttc
atagtgactt gtcgtactgg attgagagtc gctacaacga cacatggaaa	3060 cttgagaggg
cagtcttgg agaggtcaaa tcttgcactt ggccagagac acacactctt	3120 tggggagatg
gtgttgagga aagtgaactc atcatccgc ataccatagc cggaccaaaaa	3180 agcaagcaca
atcggaggga agggtacaaa acacaaaacc agggaccttggacgaaaac	3240 ggcatagtct
tggactttga ttattgccca gggacaaaag tcaccatcac agaggattgt	3300 ggcaagagag
gcccttcgggt cagaaccact actgacagtg gaaagttgat tactgactgg	3360 tgctgtcgca
gttgctccct tccggcccta cgattccgga cagaaaaatgg ctgctggtag	3420 ggaatggaaa
tcagacctgt taggcatgat gaaacaacac tcgtcagatc acaggttgat	3480 gctttcaatg
gtgaaatggt tgaccctttt cagctggcc ttctggtagt gtttctggcc	3540 acccaggagg
tccttcgcaa gaggtggacg gccagatga ccattcctgc gttttgggg	3600 gccctgcttgc
tgctgatgct tgggggcac acttacactg atttggcgag gtatgtggtg	3660 ctagtcgtg
ctgcttcgc agaggccaat aatggaggag acgtcctgca ctttgctttt	3720 attgccgttt
ttaagatcca accagctttt ctagttagtga acatgcttag cacgagatgg	3780 acgaaccaag

aaaacgtggt cctggtccta ggggctgcct tcttcaatt ggcctcagta	3840 gatctgcaaa
tcggagtcca cggaatcctg aatgccgccc ctatagcatg gatgatttt	3900 cgagcgatca
cctccccac aacccctcc gtcaccatgc cagtccttagc gcttctaaact	3960 ccggaaatga
gggctctata cctagacact tacagaatca tcctctcgat cataggatt	4020 tgctccctgc
tgcaagagag gaaaaagacc atggcaaaaa agaaaggagc tgtactcttg	4080 ggcttagcgc
tcacatccac tggatggttc tcgcccacca ccatacgctgc tggacttatg	4140 gtctgcaacc
caaacaagaa gagaggggtgg ccagctactg agttctgtc ggcagtggaa	4200 ttgatgtttt
ccatcgtagg tggtttggcc gagttggata ttgaatccat gtcaatacc	4260 ttcatgctgg
caggtcttat ggcagtgtcc tacgttgtt cagaaaaagc aacagatatg	4320 tggctcgaac
ggccgcccga catcagctgg gagatggatg ctgcaatcac aggaaggcagt	4380 cggaggctgg
atgtgaaact ggatgatgac ggagattttc acttgattga tgatccggc	4440 gttccatgga
aagtttgggt cttgcgcatt tcttgcattt gcttagccgc cctcacgcct-	4500 tggccattt
ttcccgccgc tticggttac tggctcactt taaaaacaac aaaaagaggg	4560 ggcgtgtttt
gggacacgccc atccccaaa cttgcattaa aaggagacac cactacagga	4620 gtctaccgaa
tcatggctag agggattttt ggcacctacc aggctggcgt cggagtcatt	4680 tacgagaatg
ttttccacac actatggcac acaactagag gggcagccat tatgagtggaa	4740 gaaggaaaat
tgacgccata ctggggtagc gtgaaagaag accgcatacg ttacggaggc	4800 ccatggagat
ttgatcgaaa atggaatgga acagatgacg tgcaagtgtat cgtggtagaa	4860 ccggggaaagg
ctgcggtaaa catccagaca aaaccaggag tgttcggac ccccttcggg	4920 gaggttgggg
ctgttagcct ggattacccg cgaggaacat ccggctcacc cattctggat	4980 tccaatggag
acatcatagg cctatacggc aatggagttt agcttggcga tggctcatac	5040 gtcagcgcca

tcgtgcaggg tgaccgtcag gaggaaccag tcccagaagc ttacactcca	5100 aacatgttaa
gaaagagaca gatgactgtg ttagattgc accctggttc agggaaaacc	5160 aggaaaattc
tgccacaaat aattaaggat gcaatccagc agcgccataag aacagctgt	5220 ttggcaccga
cgcgggtggt agcagcagaa atggcagaag ctttgagagg gctccagta	5280 cgataccaaa
cttcagcagt gcagagagag caccaaggaa atgaaatagt ggatgtgatg	5340 tgccacgcca
ctctgaccca cagattgtat tcaccgaaca gagtgcccaa ctacaatcta	5400 tttgtcatgg
atgaagctca tttcaccgac ccagccagca tagccgcacg aggatacatc	5460 gctaccaagg
tggaatttagg agaggcagca gccatctta tgacagcgcac cccgcctgga	5520 accacggatc
ctttcccgta ctcaaattgcc ccaatccatg attacaaga ttagatacca	5580 gacagggcat
ggagcagtgg atacgaatgg atcacagaat atgcggtaa aaccgtgtgg	5640 tttgtggcga
gcgtaaaaat gggaatgag attgcaatgt gcctccaaag agcggaaaaa	5700 aaggtcatcc
aactcaaccg caagtcttat gacacagaat accaaaaatg taagaatgga	5760 gactggatt
ttgtcattac caccgacatc tctgaaatgg gggctaactt cggtgcgagc	5820 agggtcatcg
actgcagaaa gagcgtgaaa cccaccatct tagaagaggg agaaggcaga	5880 gtcatcctcg
gaaacccatc tcccataacc agtgctagcg cagctcaacg gagggcaga	5940 gtaggcagaa
accccaacca agttggagat gaataccatt atggagggc taccagtcaa	6000 gatgacagta
acctagccca ttggacagag gcaaagatca tgttagacaa catacacatg	6060 cccaatggc
tggtggccca gctctatgga ccagagagg aaaaggctt cacaatggat	6120 ggcgaatacc
gtctcagggg tgaagaaaag aaaaacttct tagagctgct taggacggct	6180 gaccttccgg
tgtggctggc ctataaggtg gcgtccaatg gcattcagta caccgacaga	6240 aagtgggtt
ttgtatggcc gcgcacgaat gccatactgg aggacaacac cgaggttagag	6300 atagtcaccc

ggatgggtga gagaaaagatc ctcaagccga gatggcttga tgcaagagta	6360 tacgcagatc
accaagccct caagtggttc aaagactttg cagcaggaaa gagatcgccc	6420 gtttagttca
tagaggtgct cggtcgcatg cctgagcatt tcatggaaa gacgcggaa	6480 gcttttagaca
ccatgtactt ggtcgcaacg gctgagaaa gtgggaaggc acaccgaatg	6540 gctctcgaag
agttgccgga tgcactggaa accatcacac ttattgttgc catcaactgta	6600 atgacaggag
gattcttcct actaatgatg cagcgaaagg gtatagggaa gatgggtctt	6660 ggagctctag
tgctcacgct agctacccitc ttccctgtggg cggcagaggt tcctggacc	6720 aaaatagcag
ggaccctgct gatgccctg ctgctgatgg tggttctcat cccagaaccg	6780 gaaaaacaga
ggtcacagac agacaaccaa ctgcggtgtt ttctcatctg cgtcttgacc	6840 gtgggtggag
tggtggcagc aaacgagtac gggatgctag aaaaaaccaa agcagatctc	6900 aagagcatgt
ttggcggaaa gacacaggca tcaggactga ctggattgcc aagcatggca	6960 ctggacctgc
gtccagccac agcctggca ctgtatgggg ggagcacagt tgtgctaacc	7020 cctcttctga
agcacctgat cacgtcgaa tatgtcacca catcgctagc ctcaattaac	7080 tcacaagctg
gctcattatt cgtcttgcca cgaggcgtgc ctttaccga tctagacctg	7140 accgttggcc
tcgtcttcct tggctgctgg ggtcaaatac ccctcacaac gttttgaca	7200 gccatggttc
tggcgacact tcactatggg tacatgctcc ctggatggca agcagaagca	7260 ctcagggctg
cccagagaag gacggcggct ggaataatga agaatgccgt tggtgacgga	7320 atggtcgcca
ctgatgtgcc tgaactggaa aggactactc ctctgatgca aaagaaaatgc	7380 ggacaggtgc
tcctcatagg ggtgagcgtg gcagcggttc tcgtcaaccc taatgtcacc	7440 actgtgagag
aagcaggggt gttggtgacg gcggctacgc tcaccttgtg ggataatgga	7500 gccagtgccg
tttggaaattc caccacagcc acgggactct gccatgtcat gcgaggtacg	7560 tacctggctg

gaggctctat tgcttggact cttatcaaga acgctgacaa gccctccttg	7620 aaaagggaa
ggcctgggg caggacgcta ggggagcagt ggaaggaaaa actaaatgcc	7680 atgagcagag
aagagtttt taaaataccgg agagaggcca taatcgaggt ggaccgcact	7740 gaagcacgca
gggctagacg tgaaaataac atagtggag gacatccggt ttgcgcaggc	7800 tcagcaaaac
tccgttggct cgtggagaaa ggattcgctc cgccaatagg aaaagtcat	7860 gatcttagggt
gtggcgtgg aggatggagc tactacgcag caaccctgaa gaaggtccag	7920 gaagt cagag
gatacacgaa aggtgggchg ggacatgaag agccgatgct catgcagagc	7980 tacggctgga
acctggtctc cttaaagagt ggagtggatg ttttctacaa acttcagag	8040 cctagtgaca
ccctgttctg tgacataggg gaatcctccc caagtccaga agtggaaagaa	8100 caacgcacac
tacgcgtcct agagatgaca tccgatttgt tgcatcgagg acccagagag	8160 ttctgcataa
aagttctctg cccttacatg cccaaaggta tagaaaaaaat ggaagtctg	8220 cagcgccgct
tcggaggtgg gctagttacgt ctccccctgt cccgaaactc caatcacgag	8280 atgtattggg
ttagtggagc cgctggcaat gtgggcacg ctgtgaacat gaccagccag	8340 gtactactgg
ggcgaatgga tcgcacagtg tggagagggc caaagtatga ggaagatgtc	8400 aacctaggta
gcggaaacaag agccgtggga aaggagaag ttcatagcaa tcaggagaaa	8460 atcaagaaga
gaatccagaa gcttaaagaa gaattcgcca caacgtggca caaagaccct	8520 gaacacccat
accgcacttg gacataaccac ggaagctatg aggtgaaggc tactggctca	8580 gccagctctc
tctcaacgg agtggtaag ctcatgagta aaccttggga cgccattgcc	8640 aacgtcacca
ccatggccat gactgacacc acccctttg gacagcaaag agtttcaag	8700 gagaaagttg
acacgaaagc tcctgagcca ccagctggag tcaaggaagt gctcaacgag	8760 accaccaact
ggctgtggc ccacttgtca cggaaaaaa gaccccgctt gtgcaccaag	8820 gaagaattta

taaagaaagt caatagcaac gcggctttt gaggcgtgt tgctgaacag	8880 aatcaatgga
gcacggcgcg tgaggctgtg gacgaccgc gttttggga gatggtaat	8940 gaagagaggg
aaaaccatct gcgaggagag tgcacaca gtatctacaa catgatggaa	9000 aaaagagaga
agaagcctgg agagtttggaa aaagctaaag ggagcaggc catttggttc	9060 atgtggcttg
gagcacggta tcttagagttt gaagctttgg ggttcctgaa tgaagaccac	9120 tggctgagcc
gagagaattc aggagggtgga gtataaggct caggcgtcca aaagttggaa	9180 tacatcctcc
gtgacatagc aggaagcaa ggagggaaaa tgtacgctga tgacaccgcc	9240 gggtgggaca
ctagaattac tagaactgat ttagaaaatg aagctaaggt gctggagctc	9300 ctagatggtg
aacaccgcat gctcgcccg gccataattt aactgactta caggcacaaa	9360 gtggtcaagg
tcatgagacc tgcagcagaa ggaaagaccg tggatggacgt gatataaaga	9420 gaagaccaaa
gggggagtgg acaggtggtc acttatgctc tcaacacttt cacgaacatc	9480 gctgtccagc
tcgtttaggct gatggaggct gagggggtca ttggggccaca acacttggaa	9540 cagctgccta
ggaaaaacaa gatagctgtc aggacttggc tctttgagaa tggagaggag	9600 agagtgacca
ggatggcgat cagcggagac gactgtgtcg tcaagccgtt ggacgacaga	9660 ttgcgcacgg
ccctccattt cctcaacgca atgtcaaagg ttagaaaaga catccaggaa	9720 tggaagcctt
cgcacggctg gcacgattgg cagcaagttc cttctgctc taaccacttt	9780 caggagattg
tgtatgaaaga cggaaggagt atagttgtcc cgtgcagagg acaggatgag	9840 ctgataggca
gggctcgcat ctctccagga gctggatgga atgtgaagga cacagcttgc	9900 ctggcaaaag
catatgcaca gatgtggcta ctcctataact tccatcgttag ggacctgcgt	9960 ctcatggcaa
atgcgatttg ctcagcagtg ccagtggatt gggtgcccac aggcaggaca	10020 tcctggtcaa
tacactcgaa aggagagtgg atgaccacgg aagacatgct gcaggctgg	10080 aacagagtct

ggattgaaga aatgaatgg atgatggata agactccgt cacaagctgg 10140 acagacgttc
 cgtatgtggg aaagcgttag gacatctggt gtggcagcct catcgaaacg 10200 cgttccagag
 caacctggc tgagaacatc tatgcggcga taaaccaggt tagagctgtc 10260 attggaaag
 aaaattatgt tgactacatg acctcactca ggagatacga agacgtcttg 10320 atccaggaag
 acagggtcat ctatgtgac ttaaggtaga aatgtaaata atgtaatga 10380 gaaaatgcat
 gtatatggag tcagggcagc aaaagctgcc accggatact gggtagacgg 10440 tgctgcctgc
 gtctcagtcc caggaggact gggtaacaa atctgacaac agaaagttag 10500 aaagccctca
 gaaccgtctc ggaagtaggt ccctgctcac tggaagttga aagaccaacg 10560 tcagggcacg
 aatitgtgcc actccgctgg ggagtgcggc ctgcgcagcc ccaggaggac 10620 tgggttacca
 aagccgttga ggccccacg gcccaagcct cgtctaggat gcaatagacg 10680 aggtgttaagg
 actagagggtt agaggagacc ccgtggaaac aacaacatgc ggcccaagcc 10740 ccctcgaagc
 tgttagaggag gtggaaggac tagaggttag aggagacccc gcatttgcac 10800 caaacagcat attgacac
 10818 <210> 10 <211> 27 <212> DNA <213> Artificial Sequence <220> <223>
 synthetic oligodeoxyribonucleotide T <400> 10 ccagtgttgt ggcctgcagg gcgaatt
 27 <210> 11 <211> 27 <212> DNA <213> Artificial Sequence <220> <223>
 oligonucleotide TR, which is complementary to oligonucleotide T of the SEQ.
 ID. No. 10 <400> 11 gatgaattcg ccctgcaggc cacaaca
 27 <210> 12 <211> 18 <212> DNA <213> Artificial Sequence <220> <223>
 primer J35, complementary to nt 10259-10276 of the JEV genome <400> 12 agcaacctgg
 gctgagaa 18 <210> 13 <211>
 18 <212> DNA <213> Artificial Sequence <220> <223> primer J40, complementar

to nt 215-232 of the JEV genome <400> 13 aaacgtactg gtcctctg
18 <210> 14 <211> 18 <212> DNA <213> Artificial Sequence <220> <223>
primer J39, which is complementary to nt 164-181 of the JEV genome <400>
14 cccacttagtg ggaatacg 18 <210>
15 <211> 10968 <212> DNA <213> Japanese encephalitis virus <400> 15
agaagtttat ctgtgtgaac ttcttggctt agtatcgttg agaagaatcg agagattagt 60
gcagttaaa cagttttta gaacggaaga taaccatgac taaaaaacca ggagggcccg 120
gtaaaaaccg ggctatatcaat atgctgaaac gcggcctacc ccgcgtattc ccactagtg 180
gagtgaagag ggtagtaatg agcttggttgg acggcagagg accagtagt ttcgtgctgg 240
ctcttatcac gttcttcaag tttacagcat tagccccgac caaggcgctt ttaggccat 300
ggaaagcagt ggaaaagagt gtggcaatga aacatttac tagttcaaa cgagaacttg 360
gaacactcat tgacgcccgtg aacaagcggg gcagaaagca aaacaaaaga ggaggaaatg 420
aaggctcaat catgtggctc gcgagttgg cagttgtcat agcttgcgtt ggagccatga 480
agtgtcaaa ttccaaggg aagctttga tgaccattaa caacacggac attgcagacg 540
tcatcgtat tcctacctca aaaggagaga acagatgctg ggtccggca atcgatgtcg 600
gctacatgtg tgaggacact atcacgtacg aatgcctaa gcttaccatg ggcaatgatc 660
cagaggatgt ggattgctgg tgtgacaacc aagaagtcta cgtccaatat ggacggtgca 720
cgccggaccag gcattccaag cgaaggcagga ggtccgtgtc ggtccaaaca catggggaga 780
gttcacttagt gaataaaaaaa gaggcttggc tggattcaac gaaagccaca cgatatctca 840
tgaaaactga gaactggatc ataaggaatc ctggctatgc tttcctggcg gcggtaatgg 900
gctggatgct tggcagtaac aatggtcaac gcgtggtgtt taccatcctc ctgctgttgg 960

tcgctccggc ttacagttt aattgtctgg gaatggcaa ccgtgactc atagaaggag	1020
ccagtggagc cacttgggtg gacttagtgc tagaaggaga tagctgcttg acaatcatgg	1080
caaacgacaa accaacattg gacgtccgca tgattaacat cgaagccagc caacttgctg	1140
aggtcagaag ctattgtat catgcttcag tcactgacat ctcgacggtg gctcggtgcc	1200
ccacgactgg agaagcccac aacgagaagc gagctgatag tagctatgtg tgcaaacaag	1260
gttcaactga tcgtgggtgg ggcaacggat gtggacttt cgaaaaggga agcattgaca	1320
catgtgcaaa attctcctgc accagtaagg cgattggag aacaatccag ccagaaaaca	1380
tcaaatacga agttggcatt tttgtgcatg gaaccaccac ctcggaaaac catggaaatt	1440
attcagcgca agtagggcgt tcccaggcgg caaagttac agtaacaccc aatgctcctt	1500
cgataaccct caaacttggt gactacggag aagtacact ggactgtgaa ccaaggagtg	1560
gactgaacac tgaagcgtt tacgtcatga ccgtgggtc aaagtcattt ctggccata	1620
ggaaatggtt tcatgacctc gctctccct ggacgtcccc ttcgagcaca gcgtggagaa	1680
acagagaact cctcatggaa ttgaagagg cgcacgcccac aaaacagtcc gttgttgctc	1740
ttgggtcaca ggaaggaggc ctccatcagg cgctggcagg agccatgtg gtggagatct	1800
caagctcagt gaagttaca tcaggccacc tgaatgtag gctgaaaatg gacaaactgg	1860
ctctgaaagg cacaacctat ggcacgtgtc cagaaaaatt ctgcgtcgaa aaaaatccgg	1920
cggacactgg ccacggaaaca gttgtcatgt aactctccta ttctgggagt gatggccct	1980
gcaaaattcc gattgtctcc gttgcgagcc tcaatgacat gaccccccgtt gggcggctgg	2040
tgacagtgaa ccccttcgtc gcgacttcca gtgccaactc aaaggtgctg gtgcgagatgg	2100
aaccccccatt cggagactcc tacatgttag ttggaaggagg agacaaggcag atcaaccacc	2160
attggataa agctggaagc acgctggca aggcttttc aacaactttg aaggagatgc	2220

aaagactggc agcgttggc gacacagcct gggacttgg ctctattgga ggggtttca 2280
actccatagg aaaggccgtt caccaagtgt ttggtggcgc tttcagaaca ctcttgggg 2340
aatgtcttg gatcacacaa gggtaatgg gtgcctact actctggatg ggcataacg 2400
cacgagatcg atcaattgct ttggccttct tggccacagg aggtgtgctc gtgttcttag 2460
cgaccaatgt gcatgctgac actggatgtg ccattgacat cgcaagaaaa gagatgagat 2520
cgccaagtgg catttcggt cacaacgacg tggaagcctg ggtggatagg tataaatatt 2580
tgccagaaac gcccagatcc ctagcgaaga tcgtccacaa agcgcacaag gaaggcgtgt 2640
gcggagtcag atctgtcact agactggagc accaaatgtg ggaagccgtg cgggacgaat 2700
tgaacgtcct gctcaaagag aatgcagtgg acctcagtgt gtttgtgaac aagccgtgg 2760
ggagatatcg ctcagccccaa aacgcctgt ccatgacgca agagaagttt gaaatggct 2820
ggaaagcatg gggaaaaagc attcttttgc ccccgaaatt ggctaactcc acatttttg 2880
tagatggacc tgagacaaag gaatgtcctg atgagcacag agcctgaaac agcatgaaaa 2940
tcgaagactt cggcttggt atcacatcaa cccgtgtgt gctgaagatt agagagaaaa 3000
gcactgacga gtgtgatgga gcgatcatag gcacagctgt caaaggacat gtggcagttc 3060
atagtgactt gtcgtactgg attgagagtc gctacaacga cacatggaaa cttgagaggg 3120
cagtcttgg agaggtcaaa tcttgcactt ggccagagac acacacttt tggggagatg 3180
gtgttgggaa aagtgaactc atcatccgc ataccatagc cggaccaaaa agcaagcaca 3240
atcgaggaga agggtacaaa acacaaaacc agggaccttgg gacgaaaaac ggcatagtct 3300
tggactttga ttattgccca gggacaaaag tcaccatcac agaggatgt ggcaagagag 3360
gcccttcggt cagaaccact actgacagtg gaaagttgt tactgactgg tgctgtcgca 3420
gttgctccct tccgccccta cgattccgga cagaaaatgg ctgctggtaa ggaatggaaa 3480

tcagacctgt taggcatgat gaaacaacac tcgtcagatc acaggtttagt gctttcaatg 3540
gtgaaatggt tgacccttt cagctggcc ttctgggtat gtttctggcc acccaggagg 3600
tccttcgcaa gaggtggacg gccagattga ccattcctgc ggttttgggg gccctgcttg 3660
tgctgatgct tggggcatac acttacactg atttggcgag gtatgtggtg ctatcgctg 3720
ctgctttcgc agaggccaat aatggaggag acgtcctgca ctttgctttg attgccgtt 3780
ttaagatcca accagcttt ctatgtatgatgatgatgatgatgatgatgatgatgatgatg 3840
aaaacgtggt cctggtccta ggggctgcct tcttcaatt ggcctcagta gatctgcaaa 3900
tcggagtcca cgaaatcctg aatgccgcgc ctatagcatg gatgattgtt cgagcgatca 3960
ccttccccac aacccctcc gtcaccatgc cagtccttagc gcttctaact ccgggaatga 4020
gggctctata cctagacact tacagaatca tccttcgt cataggatt tgctccctgc 4080
tgcaagagag gaaaaagacc atggcaaaaa agaaaggagc tgtactttg ggcttagcgc 4140
tcacatccac tggatggttc tcgcccacca ccatagctgc tggacttatg gtctgcaacc 4200
caaacaagaa gagaggggtgg ccagctactg agtttctgtc ggcagtggaa ttgtatgttt 4260
ccatcgtagg tgggtggcc gagttggata ttgaatccat gtcaataccc ttcatgctgg 4320
caggtcttat ggcagtgtcc tacgttgtt cagaaaaagc aacagatatg tggctcgaac 4380
ggccgcgcga catcagctgg gagatggatg ctgcaatcac aggaaggcagt cggaggctgg 4440
atgtgaaact ggatgtatgac ggagattttc acttgattga tgatccggc gttccatgg 4500
aagtttgggt ctgcgcattg tcttcattt gcttagccgc cctcacgcct tggccattt 4560
ttcccgccgc tttcggttac tggctactt taaaaacaac aaaaagaggg ggcgttttt 4620
gggacacgccc atccccaaa ctttgcttaa aaggagacac cactacagga gtctaccgaa 4680
tcatggctag agggattttt ggcacctacc aggctggcgt cggagtcatg tacgagaatg 4740

tttccacac actatggcac acaactagag gggcagccat tatgagtgg aaaaaaaaaat 4800
tgacgccata ctgggttagc gtgaaagaag accgcatacg ttacggaggc ccatggagat 4860
ttgatcgaaa atggaatgg acaagatgacg tgcaagtgtat cgtggtagaa ccggggaaagg 4920
ctgcggtaaa catccagaca aaaccaggag tgtttcggac ccccttcggg gaggttgggg 4980
ctgttagcct ggattacccg cgaggaacat ccggctcacc cattctggat tccaatggag 5040
acatcatagg cctatacggc aatggagttg agcttggcga tggctcatac gtcagcgcca 5100
tcgtgcaggg tgaccgtcag gaggaaccag tcccagaagc ttacactcca aacatgttaa 5160
gaaagagaca gatgactgtg ttagatttc acccctggttc agggaaaacc aggaaaattc 5220
tgccacaaat aattaaggat gcaatccagc agcgcctaag aacagctgtg ttggcaccga 5280
cgcgggtggt agcagcagaa atggcagaag ctgtgagagg gctcccagta cgataccaaa 5340
cttcagcagt gcagagagag caccaaggaa atgaaatagt ggatgtgatg tgccacgcca 5400
ctctgaccca cagattgatg tcaccgaaca gagtgcacaa ctacaatcta tttgtcatgg 5460
atgaagctca tttcaccgac ccagccagca tagccgcacg aggatacatc gctaccaagg 5520
tggaaattagg agaggcagca gccatctta tgacagcgcac cccgcctgg aaccacggatc 5580
ctttcccgat ctcaaattgc ccaatccatg atttacaaga tgagatacca gacagggcat 5640
ggagcagtgg atacgaatgg atcacagaat atgcggtaa aaccgtgtgg tttgtggcga 5700
gcgtaaaaat gggaaatgag attgcaatgt gcctccaaag agcggaaaaa aaggtcatcc 5760
aactcaaccg caagtccat gacacagaat accaaaaatg taagaatgg gactgggatt 5820
ttgtcattac caccgacatc tctgaaatgg gggctaactt cggtgcgagc agggtcatcg 5880
actgcagaaa gagcgtgaaa cccaccatct tagaagaggg agaaggcaga gtcatacctcg 5940
gaaacccatc tcccataacc agtgctagcg cagctcaacg gagggcaga gtaggcagaa 6000

accccaacca agttggagat gaataccatt atggagggc taccagtcaa gatgacagta 6060
acctagccca ttggacagag gcaaagatca tgttagacaa catacacatg cccaatggc 6120
tggtgccca gctctatgga ccagagaggg aaaaggctt cacaatggat ggcgaatacc 6180
gtctcagggg tgaagaaaag aaaaacttct tagagctgct taggacggct gacccccc 6240
tgtggctggc ctataaggtg gcgtccaatg gcattcagta caccgacaga aagtgggttt 6300
tttatggcc gcgcacgaat gccatactgg aggacaacac cgaggttagag atagtccccc 6360
ggatgggtga gagaaagatc ctcaagccga gatggcttga tgcaagagta tacgcagatc 6420
accaagccct caagtggttc aaagactttg cagcaggaaa gagatcgcc gtttagttca 6480
tagaggtgct cggtcgcatt cctgagcatt tcatggaaa gacgcggaa gcttttagaca 6540
ccatgtactt ggtcgcaacg gctgagaaag gtggaaaggc acaccgaatg gctctcgaag 6600
agttgccgga tgcactggaa accatcacac ttattgttgc catcactgta atgacaggag 6660
gattcttcct actaatgatg cagcgaaagg gtataggaa gatgggttt ggagctctag 6720
tgctcacgct agtacacctc ttcctgtggg cggcagaggt tcctggaaacc aaaatagcag 6780
ggaccctgct gatcgccctg ctgctgatgg tggttctcat cccagaaccc gaaaaacaga 6840
ggtcacagac agacaaccaa ctgcgggtt ttctcatctg cgtttgacc gtggttggag 6900
tggtggcagc aaacgagtac gggatgctag aaaaaaccaa agcagatctc aagagcatgt 6960
ttggcggaaa gacacaggca tcaggactga ctggattgcc aagcatggca ctggacctgc 7020
gtccagccac agcctggca ctgtatgggg ggagcacagt tgtgctaacc cctttctga 7080
agcacctgat cacgtcgaa tatgtcacca catcgctagc ctcaattaac tcacaagctg 7140
gctcattatt cgtttgccca cgaggcgtgc cttcaccga tctagacctg accgttggcc 7200
tcgtttcct tggctgctgg ggtcaaatca ccctcacaac gttttgaca gccatggttc 7260

tggcgacact tcactatggg tacatgctcc ctggatggca agcagaagca ctcagggctg 7320
cccagagaag gacggcggct ggaataatga agaatgccgt tggtagcggaa atggcgcca 7380
ctgatgtgcc tgaactggaa aggactactc ctctgatgca aaagaaaatgc ggacagggtgc 7440
tcctcatagg ggtgagcgtg gcagcgtttc tcgtcaaccc taatgtcacc actgtgagag 7500
aagcaggggt gttggtgacg gcggctacgc tcaccctgtg ggataatgga gccagtgccg 7560
tttggattc caccacagcc acgggactct gccatgtcat gcgaggttagc tacctggctg 7620
gaggctctat tgcttgact ctatcaaga acgctgacaa gccctccttg aaaaggggaa 7680
ggcctgggg caggacgcta ggggagcagt ggaagggaaa actaaatgcc atgagcagag 7740
aagagtttt taaataccgg agagaggcca taatcgaggt ggaccgcact gaagcacgca 7800
gggctagacg taaaataac atagtggag gacatccggc ttgcgcaggc tcagcaaaac 7860
tccgttggct cgtggagaaa ggattcgtct cgccaatagg aaaagtcat tgcgtgggt 7920
gtggcgtgg aggatggagc tactacgcag caaccctgaa gaaggtccag gaagttagag 7980
gatacacgaa aggtggggcg ggacatgaag agccgatgct catgcagagc tacggctgga 8040
acctggtctc cttaaagagt ggagtggatg tttctacaa accttcagag cctgtgaca 8100
ccctgttctg tgacataggg gaatcctccc caagtccaga agtggaaagaa caacgcacac 8160
tacgcgtcct agagatgaca tccgatttgt tgcacgcagg acccagagag ttctgcataa 8220
aagtctctg cccttacatg cccaaaggta tagaaaaat ggaagttctg cagcgccgct 8280
tcggaggtgg gcttagtacgt ctccccctgt cccgaaactc caatcacgag atgtattggg 8340
ttagtggagc cgctggcaat gtggtgacgc ctgtgaacat gaccagccag gtactactgg 8400
ggcgaatgga tcgcacagtg tggagagggc caaagtatga ggaagatgtc aaccttagta 8460
gcgaaacaag agccgtggaa aaggagaaat ttcatagcaa tcaggagaaa atcaagaaga 8520

aatccagaa gcttaaagaa gaattcgcca caacgtggca caaagaccct gaacacccat 8580
accgcacttg gacataccac ggaagctatg aggtgaaggc tactggctca gccagctctc 8640
tcgtcaacgg agtggtaag ctcatgagta aaccttggga cgccattgcc aacgtcacca 8700
ccatggccat gactgacacc acccctttg gacagcaaag agtttcaag gagaagttg 8760
acacgaaagc tcctgagcca ccagctggag tcaaggaagt gctcaacgag accaccaact 8820
ggctgtggc ccacttgtca cggaaaaaaa gaccccgctt gtgcaccaag gaagaattt 8880
taaagaaagt caatagcaac gcggctctt gaggcgttt tgctgaacag aatcaatgga 8940
gcacggcgcg tgaggctgtg gacgacccgc gttttggga gatggtaat gaagagaggg 9000
aaaaccatct gcgaggagag tgtcacacat gtatctacaa catgatggga aaaagagaga 9060
agaagcctgg agagtttggaa aagctaag ggagcaggc cattgggttc atgtggctt 9120
gagcacggta tcttaggttt gaagctttgg gttcctgaa tgaagaccac tggctgagcc 9180
gagagaattc aggaggtgga gttagaggct caggcgtcca aaagttggga tacatcctcc 9240
gtgacatagc aggaaagcaa ggagggaaaa tgtacgctga tgacaccgccc gggtgggaca 9300
ctagaattac tagaactgat tttagaaatg aagctaagg tctggagctc ctagatgggt 9360
aacaccgcat gctcgcccg gccataattt aactgactta caggcacaat gtggtaagg 9420
tcatgagacc tgcagcagaa ggaaagaccc tggatggacgt gatataaaga gaagaccaaa 9480
gggggagtgg acaggtggtc acttatgctc tcaacacttt cacgaacatc gctgtccagc 9540
tcgttaggct gatggaggct gagggggtca ttggggcaca acacttggaa cagctgccta 9600
ggaaaaacaa gatagctgtc aggacttggc tctttagaa tggagaggag agagtgcacca 9660
ggatggcgat cagcggagac gactgtgtcg tcaagccgct ggacgcacaga ttgcacccgg 9720
ccctccattt cctcaacgca atgtcaaagg tttagaaaga catccagaa tggaaagcc 9780

1020 31589

출력 일자: 2003/10/17

cgcacggctg gcacgattgg cagcaagttc ccttctgctc taaccacttt caggagattg 9840
tgatgaaaga cggaaggagt atagttgtcc cgtgcagagg acaggatgag ctgataggca 9900
gggctcgcat ctctccagga gctggatgga atgtgaagga cacagcttgc ctggcaaaag 9960
catatgcaca gatgtggcta ctcctatact tccatcgtag ggacctgcgt ctcatggcaa 10020
atgcgatttg ctcagcagtg ccagtggatt ggggcccac aggcaggaca tcctggtaaa 10080
tacactcgaa aggagagtgg atgaccacgg aagacatgct gcaggtctgg aacagagtct 10140
ggattgaaga aaatgaatgg atgatggata agactcccgt cacaagctgg acagacgttc 10200
cgtatgtggg aaagcgtgag gacatctggt gtggcagcct catcgaaacg cgttccagag 10260
caacctgggc tgagaacatc tatcgccgca taaaccaggt tagagctgtc attggaaag 10320
aaaattatgt tgactacatg acctcactca ggagatacga agacgtcttgc atccaggaag 10380
acagggtcat ctatgtgac ttaaggtaga aatgtaaata atgtgaatga gaaaatgcat 10440
gtatatggag tcagggccagc aaaagctgcc accggatact gggtagacgg tgctgcctgc 10500
gtctcagtcc caggaggact gggtaacaa atctgacaac agaaagttagtggaaag 10560
gaaccgtctc ggaagtaggt ccctgctcac tggaagttga aagaccaacg tcaggccacg 10620
aatttgcctgg actccgctgg ggagtgcggc ctgcgcagcc ccaggaggac tgggttacca 10680
aagccgttga ggccccacg gcccaagcct cgtctaggat gcaatagacg aggtgtttagg 10740
actagaggtt agaggagacc ccgtggaaac aacaacatgc ggcccaagcc ccctcgaaacg 10800
tgttagaggag gtggaaaggac tagaggttag aggagacccc gcatttgcattt caaacagcat 10860
attgacacacct ggaaatagac tggagatct tctgcttat ctcaacatca gctacttaggc 10920
acagagcgcc gaagtatgtt gctgggtggtgg 10968 <210>
aggagaaca caggatct

16 <211> 18 <212> DNA <213> Artificial Sequence <220> <223> primer J41

<400> 16 tccgtggaat gaacaatg

18 <210> 17 <211> 30 <212> DNA <213> Artificial Sequence <220> <223>

primer J43 <400> 17 acagataaac ttctctatag tgtcccctaa

30 <210> 18 <211> 18 <212> DNA <213> Artificial Sequence <220> <223>

primer J42 <400> 18 gagaagttta tctgtgtg

18 <210> 19 <211> 18 <212> DNA <213> Artificial Sequence <220> <223>

primer J40 <400> 19 aaacgtactg gtcctctg

18 <210> 20 <211> 20 <212> DNA <213> Artificial Sequence <220> <223>

primer J90 <400> 20 ttgaggcccc cacggcccaa

20 <210> 21 <211> 41 <212> DNA <213> Artificial Sequence <220> <223>

primer J45 <400> 21 agtactagtc ggtccgcggc cgctcgagat cctgtgttct t

41 <210> 22 <211> 18 <212> DNA <213> Artificial Sequence <220> <223>

primer J31 <400> 22 ggctgtgggc ccacttgt

18 <210> 23 <211> 24 <212> DNA <213> Artificial Sequence <220> <223>

primer J47 <400> 23 ccaaagcttc aaactcaaga tacc

24 <210> 24 <211> 43 <212> DNA <213> Artificial Sequence <220> <223>

primer J46 <400> 24 agtactagtc ggtccgcggc cgctctagag atcctgtgtt ctt

43 <210> 25 <211> 18 <212> DNA <213> Artificial Sequence <220> <223>

primer J81 <400> 25 tcttgccgc ctgatgaa

18 <210> 26 <211> 30 <212> DNA <213> Artificial Sequence <220> <223>

primer J80 <400> 26 acagataaac ttctctatag tgagtcgat

30 <210> 27 <211> 18 <212> DNA <213> Artificial Sequence <220> <223>
primer J42 <400> 27 gagaagttta tctgtgtg
18 <210> 28 <211> 18 <212> DNA <213> Artificial Sequence <220> <223>
primer J82 <400> 28 gcccatggta agcttagg
18 <210> 29 <211> 27 <212> DNA <213> Artificial Sequence <220> <223>
primer J48 <400> 29 actgagctca cgcgtcctcg agatgac
27 <210> 30 <211> 30 <212> DNA <213> Artificial Sequence <220> <223>
primer J3 <400> 30 gatttaatttta acaccccttc tacagcttcg
30 <210> 31 <211> 20 <212> DNA <213> Artificial Sequence <220> <223>
primer J72 <400> 31 gaaggtaccc cattgtatgg
20 <210> 32 <211> 30 <212> DNA <213> Artificial Sequence <220> <223>
primer J73 <400> 32 ttctccttta cccatggttg tggcaagctt
30 <210> 33 <211> 18 <212> DNA <213> Artificial Sequence <220> <223>
primer J74 <400> 33 atggtaaag gagaagaa
18 <210> 34 <211> 30 <212> DNA <213> Artificial Sequence <220> <223>
primer J75 <400> 34 aagatgcatt cattaaccgt cgactgcaga
30 <210> 35 <211> 30 <212> DNA <213> Artificial Sequence <220> <223>
primer J76 <400> 35 tttggcgtct tccatggttg tggcaagctt
30 <210> 36 <211> 18 <212> DNA <213> Artificial Sequence <220> <223>
primer J77 <400> 36 atggaagacg ccaaaaac
18 <210> 37 <211> 30 <212> DNA <213> Artificial Sequence <220> <223>

primer J78 <400> 37 cttaaagatgc attcattaca cggcgatctt
30 <210> 38 <211> 20 <212> DNA <213> Artificial Sequence <220> <223>
primer J90 <400> 38 tgctttggcc ttcttgccca
20 <210> 39 <211> 30 <212> DNA <213> Artificial Sequence <220> <223>
primer J91 <400> 39 acccgcatat tctgtgatcc gtgggttcag
30 <210> 40 <211> 18 <212> DNA <213> Artificial Sequence <220> <223>
primer J92 <400> 40 acagaatatg cgggtaaa
18 <210> 41 <211> 21 <212> DNA <213> Artificial Sequence <220> <223>
primer J93 <400> 41 agctaacggc cgatctcttt c
21 <210> 42 <211> 16847 <212> DNA <213> Artificial Sequence <220> <223>
sequence for pBAC/SV vector <400> 42 attgacggcg tagtacacac tattgaatca aacagccgac
caattgcact accatcacaa 60 tggagaagcc agtagtaaac gtagacgtag acccccagag
tccgttgtc gtgcaactgc 120 aaaaaagctt cccgcaattt gaggttagtag cacagcaggt
cactccaaat gaccatgcta 180 atgccagagc atttcgcat ctggccagta aactaatcga
gctggagggtt cctaccacag 240 cgacgatctt ggacataggc agcgcaccgg ctcgtagaat
gtttccgag caccagtatc 300 attgtgtctg ccccatgcgt agtccagaag acccggaccg
catgatgaaa tacgccagta 360 aactggcggaa aaaagcgtgc aagattacaa acaagaactt
gcatgagaag attaaggatc 420 tccggaccgt acttgatacg ccggatgctg aaacaccatc
gctctgcttt cacaacgatg 480 ttacctgcaa catgcgtgcc gaatattccg tcatgcagga
cgtgtatatc aacgctcccg 540 gaactatcta tcatcaggct atgaaaggcg tgcggaccct
gtactggatt ggcttcgaca 600 ccacccagtt catgttctcg gctatggcag gttcgtaccc

tgctacaac accaactggg
cagcacaaag ctgagtgaag
gaagcccggtt tcgcgggtt
cagcttgcag agctggcatc
ttgccgctgt gatacagtgg
tcccgggatc acgggagaaa
gctatgcaaa gttactgaca
catccggcc accatatgcg
cgatgcacaa aaacttctgg
caggaacacc aacaccatgc
atgggctaag gagcgcagg
caagcttacg tatggctgct
cccacctgga acgcagacct
gtccgtatgg acgaccttt
accaaagaag gagaaaaaac
tgcttttag gatgctcagg
attagtggca gacaaaggca
ccaggcggac atcggagcag
tcaagcaaat gaccgtatga
gaatgccaaa ctcgcaccag
cgaaagatca ggaaggtacg
660 ccgacgagaa agtccttcaa gcgcgttaaca tcggactttg
720 gtaggacagg aaaattgtcg ataatgagga agaaggagtt
780 atttctccgt aggatcgaca ctttatccag aacacagagc
840 ttccatcggt gttccacttg aatggaaagc agtcgtacac
900 tgagttgcga aggctacgta gtgaagaaaa tcaccatcag
960 ccgtggata cgccgttaca cacaatagcg agggcttctt
1020 cagtaaaagg agaacggta tcgttccctg tgtgcacgta
1080 atcagatgac tggtataatg gccacggata tatcacctga
1140 ttgggctcaa ccagcgaatt gtcattaacg gtaggactaa
1200 aaaattacct tctgccgatc atagcacaag gttcagcaa
1260 atgatcttga taacgagaaa atgctggta ctagagaacg
1320 tgtggcggtt tcgcactaag aaagtacatt cgtttatcg
1380 gcgtaaaagt cccagcctct tttagcgtt ttccatgtc
1440 tgcccatgtc gctgaggcag aaattgaaac tggcattgca
1500 tgctgcaggt ctcggagaa ttagtcatgg aggccaaggc
1560 aggaagccag agcggagaag ctccgagaag cacttccacc
1620 tcgaggcagc cgcagaagtt gtctgcgaag tggagggct
1680 cattagttga aaccccgcgc ggtcacgtaa ggataatacc
1740 tcggacagta tatcggtgtc tcgccaact ctgtgctgaa
1800 cgcacccgct agcagatcag gttaagatca taacacactc
1860 cggtcgaacc atacgacgct aaagtactga tgccagcagg

aggtgccgta ccatggccag 1920 aattccttagc actgagttag agcgccacgt tagtgtacaa
cgaaagagag tttgtgaacc 1980 gcaaactata ccacattgcc atgcatggcc ccgccaagaa
tacagaagag gagcagtaca 2040 aggttacaaa ggcagagctt gcagaaaacag agtacgtgtt
tgacgtggac aagaagcgtt 2100 gcgttaagaa ggaagaagcc tcaggtctgg tcctctcgaa
agaactgacc aaccctccct 2160 atcatgagct agctctggag ggactgaaga cccgacctgc
ggtcccgtac aaggtcgaaa 2220 caataggagt gataggcaca ccggggtcgg gcaagtca
tattatcaag tcaactgtca 2280 cggcacgaga tcitgttacc agcggaaaga aagaaaattg
tcgcgaaatt gaggccgacg 2340 tgctaagact gaggggtatg cagattacgt cgaagacagt
agattcggtt atgctcaacg 2400 gatgccacaa agccgtagaa gtgctgtacg ttgacgaagc
gttcgcgtgc cacgcaggag 2460 cactacttgc ctgttgcgtt atcgctaggc cccgcaagaa
ggtagtacta tgccggagacc 2520 ccatgcaatg cggttttc aacatgtgc aactaaaggt
acatttcaat caccctgaaa 2580 aagacatatg caccaagaca ttctacaagt atatctcccg
gcgttgcaca cagccagtt 2640 cagctattgt atcgacactg cattacgtg gaaagatgaa
aaccacgaac ccgtgcaaga 2700 agaacattga aatcgatatt acaggggcca caaagccgaa
gccagggat atcatcctga 2760 catgtttccg cgggtgggtt aagcaattgc aaatcgacta
tccccggacat gaagtaatga 2820 cagccgcggc ctcacaaggg ctaaccagaa aaggagtgt
tgccgtccgg caaaaagtca 2880 atgaaaaccc actgtacgct atcacatcag agcatgtgaa
cgttgtgctc acccgcaactg 2940 aggacaggct agtgtggaaa accttgcagg gcgaccatg
gattaagcag cccactaaca 3000 tacctaaagg aaactttcag gctactatag aggactggaa
agctgaacac aaggaaataa 3060 ttgctgcaat aaacagcccc actccccgtg ccaatccgtt
cagctgcaag accaacgttt 3120 gctggcgaa agcattggaa ccgatactag ccacggccgg

tatcgtaactt accgggttgcc 3180 agtggagcga actgttccca cagttgcgg atgacaaacc
acattcggcc atttacgcct 3240 tagacgtaat ttgcattaag ttttcggca tggacttgac
aagcggaactg ttttctaaac 3300 agagcatccc actaacgtac catcccgccg attcagcgag
gccggtagct cattgggaca 3360 acagcccagg aacccgcaag tatgggtacg atcacccat
tgccgcccga ctctcccgta 3420 gattccgggt gttccagcta gctgggaagg gcacacaact
tgatttgcag acggggagaa 3480 ccagagttat ctctgcacag cataacctgg tcccggtgaa
ccgcaatctt cctcacgcct 3540 tagtccccga gtacaaggag aagcaacccg gcccggtcaa
aaaattcttg aaccagttca 3600 aacaccactc agtacttgt gtatcagagg aaaaaattga
agctccccgt aagagaatcg 3660 aatggatcgc cccgattggc atagccggtg cagataagaa
ctacaacctg gctttcggt 3720 ttccgcccga ggcacggta gacctggtgt tcataacat
tggaaactaaa tacagaaacc 3780 accactttca gcagtgcgaa gaccatgcgg cgaccttaaa
aaccctttcg cgttcgcccc 3840 tgaattgcct taaccttagga ggcaccctcg tggtaagtc
ctatggctac gccgaccgca 3900 acagtgagga cgtagtcacc gctttgcca gaaagttgt
cagggtgtct gcagcgagac 3960 cagattgtgt ctcaagcaat acagaaatgt acctgatttt
ccgacaacta gacaacagcc 4020 gtacacggca attcaccccg caccatctga attgcgtgat
ttcgtccgtg tatgagggt 4080 caagagatgg agttggagcc ggcgcgtcat accgcaccaa
aagggagaat attgctgact 4140 gtcaagagga agcagttgtc aacgcagcca atccgctggg
tagaccaggc gaaggagtct 4200 gccgtgccat ctataaacgt tggccgacca gttttaccga
ttcagccacg gagacaggca 4260 ccgcaagaat gactgtgtgc ctaggaaaga aagtgtatcca
cgcggtcgcc cctgattcc 4320 ggaagcaccc agaagcagaa gccttgaat tgctacaaaa
cgccattaccat gcagtggcag 4380 acttagtaaa tgaacataac atcaagtctg tcgcccattcc

actgctatct acaggcattt 4440 acgcagccgg aaaagaccgc cttgaagtat cacttaactg
cttgacaacc gcgcctagaca 4500 gaactgacgc ggacgtaacc atctattgcc tggataagaa
gtggaaggaa agaatcgacg 4560 cgccactcca acttaaggag tctgtAACAG agctgaagga
tgaagatatg gagatcgacg 4620 atgagttatg atggattcat ccagacagtt gcttgaaggg
aagaaaggga ttcatgtacta 4680 caaaaggaaa attgtattcg tacttcgaag gcaccaaatt
ccatcaagca gcaaaagaca 4740 tggcggagat aaaggtcctg ttccctaATG accaggaaag
taatgaacaa ctgtgtgcct 4800 acatattggg tgagaccatg gaagcaatcc gcgaaaagtg
cccggtcgac cataaccgt 4860 cgtctagccc gcccaaaacg ttGCCGTGCC tttgcatgt
tgccatgacg ccagaaaggg 4920 tccacagact tagaagcaat aacgtcaaag aagttacagt
atgctcctcc acccccccttc 4980 ctaagcacaa aattaagaat gttcagaagg ttcagtgcac
gaaagtagtc ctgtttAAAC 5040 cgcacactcc cgcatTCGTT cccGCCGTA agtacataga
agtGCCAGAA cagcctaccg 5100 ctcctcctgc acaggCCGAG gaggCCCCCG aagttgtac
gacaccgtca ccatctacag 5160 ctgataaacac ctcgcttgat gtcacagaca tctcactgga
tatggatgac agtagcgaag 5220 gctcacttt ttGAGCTTT agcggatcgg acaactctat
tactagtatg gacagtgtgt 5280 cgtcaggacc tagttcacta gagatagtag accgaaggca
ggtgtggtg gctgacgttc 5340 atGCCGTCCA agagCCTGCC CCTATTCCAC CGCCAAGGCT
aaagaagatg gccccctgg 5400 cagcggcaag aaaagagccc actCCACCGG caagcaatag
ctctgagtcc ctccacctct 5460 ctttgggtgg ggtatccatg tccctggat caatttcga
cgagagacg gccccccagg 5520 cagcggtaca acccctggca acaggCCCCA CGGATGTGCC
tatgttttc ggatcgttt 5580 ccgacggaga gattgatgag ctgagccgca gagtaactga
gtccgaaccc gtcctgtttg 5640 gatcatttga accggcgaa gtgaactcaa ttatatcgtc

ccgatcagcc gtatctttc 5700 cactacgcaa gcagagacgt agacgcagga gcaggaggac
tgaatactga ctaaccgggg 5760 taggtggta catatttcg acggacacag gccctggca
cttgcaaaag aagtccgttc 5820 tgcagaacca gcttacagaa ccgaccttgg agcgcaatgt
cctggaaaga attcatgcc 5880 cggtgctcga cacgtcgaaa gaggaacaac tcaaactcag
gtaccagatg atgcccaccg 5940 aagccaacaa aagtaggtac cagtctcgta aagtagaaaa
tcagaaagcc ataaccactg 6000 agcgactact gtcaggacta cgactgtata actctgccac
agatcagcca gaatgtata 6060 agatcaccta tccgaaacca ttgtactcca gtagcgtacc
ggcgaactac tccgatccac 6120 agttcgctgt agctgtctgt aacaactatc tgcatgagaa
ctatccgaca gtagcatctt 6180 atcagattac tgacgagttac gatgcttact tggatatgg
agacgggaca gtcgcctgcc 6240 tggatactgc aaccttctgc cccgctaagc tttagaagtt
cccgaaaaaaaaa catgagtata 6300 gagccccgaa tatcccgagt gcggttccat cagcgatgca
gaacacgcta caaaatgtgc 6360 tcattgccgc aactaaaaga aattgcaacg tcacgcagat
gcgtgaactg ccaacactgg 6420 actcagcgac attcaatgtc gaatgcttgc gaaaatatgc
atgtaatgac gagtattggg 6480 aggagttcgc tcggaagcca attaggatta ccactgagtt
tgtcaccgca tatgtagcta 6540 gactgaaagg ccctaaggcc gccgcactat ttgcaaagac
gtataatttg gtcccattgc 6600 aagaagtgcc tatggataga ttctgtcatgg acatgaaaag
agacgtgaaa gttacaccag 6660 gcacgaaaca cacagaagaa agaccgaaag tacaagtgtat
acaagccgca gaacccttgg 6720 cgactgctta ctatgcggg attcaccggg aatttagtgcg
taggcttacg gccgtttgc 6780 ttccaaacat tcacacgctt ttgtacatgt cggcggagga
ttttgatgca atcatagcag 6840 aacacttcaa gcaaggcgac ccggtaactgg agacggatat
cgcatcattc gacaaaagcc 6900 aagacgacgc tatggcgta accggctgtga ttagtcttgaa

ggacctgggt gtggatcaac 6960 cactactcgta cttgatcgag tgccgccttg gagaatata
atccacccat ctacctacgg 7020 gtactcgtt taaattcggg gcgatgatga aatccgaaat
gttcctcaca cttttgtca 7080 acacagtttt gaatgtcggt atcgccagca gagtactaga
agagcggctt aaaacgtcca 7140 gatgtgcagc gttcattggc gacgacaaca tcatacatgg
agtagtatct gacaaagaaa 7200 tggctgagag gtgcgccacc tggctcaaca tggaggtaa
gatcatcgac gcagtcatcg 7260 gtgagagacc accttacttc tgccgcggat ttatcttgca
agattcgggtt acttccacag 7320 cgtgccgcgt ggcggatccc ctgaaaaggc tgttaagtt
gggtaaaccg ctcccagccg 7380 acgacgagca agacgaagac agaagacgacg ctctgctaga
tgaaacaaag gcgtggttt 7440 gagtaggtt aacaggact ttagcagtgg ccgtgacgac
ccggtatgag gtagacaata 7500 ttacacctgt cctactggca ttgagaactt ttgcccagag
caaaagagca ttccaagcca 7560 tcagagggga aataaagcat ctctacgggt gtcctaata
gtcagcatag tacatttcat 7620 ctgactaata ccacaacacc accacctcta gacgcgtaga
tctcacgtga gcatgcagga 7680 ttacacctgt cctactggca ttgagaactt ttgcccagag
caaaagagca ttccaagcca 7740 tcagagggga aataaagcat ctctacgggt gtcctaata
gtcagcatag tacatttcat 7800 ctgactaata ctacaacacc accacctcta gctagagtt
accatgaccg agtacaagcc 7860 cacggtgccgc ctcgcccaccc gcgacgacgt cccccgggcc
gtacgcaccc tcgcccgcgc 7920 gttcgccgac taccccgcca cgccgcacac cgtcgaccgc
gaccgcccaca tcgagcgggt 7980 caccgagctg caagaactct tcctcacgcg cgtcgggctc
gacatcggtca aggtgtgggt 8040 cgcggacgac ggcgcgcgg tggcggtctg gaccacgccc
gagagcgtcg aagcgggggc 8100 ggtgttcgcc gagatcgcc cgccatggc cgagttgagc
ggttcccgcc tggccgcgca 8160 gcaacagatg gaaggcctcc tggcgccgca cggcccaag

gagcccgctt ggttcctggc 8220 caccgtcgcc gtctcgcccc accaccaggg caagggtctg
ggcagcgccg tcgtgctccc 8280 cggagtggag gcggccgagc gcgcgggggt gcccgcccttc
ctggagacct ccgcgccccg 8340 caacctcccc ttctacgagc ggctcgccctt caccgtcacc
gccgacgtcg agtgcccgaa 8400 ggaccgcgctg acctggtgca tgacccgcaa gcccggtgcc
tgacgcccgc cccacgaccc 8460 gcagcgcccg accgaaagga ggcacgacc ccatgatcgc
tagaccatgg ggtaccgagc 8520 tcgaattcgc ctcgtcgcta ttaattatag gacttatgat
ttttgttgc agcatgatgc 8580 tgactagcac acgaagatga cggcccaat gatccgacca
gcaaaaactcg atgtacttcc 8640 gaggaactga tgtgcataat gcatcaggct ggtacattag
atccccgctt accgcgggca 8700 atatagcaac actaaaaact cgatgtactt ccgaggaagc
gcagtgcata atgctgcfga 8760 gtgttgccac ataaccacta tattaaccat ttatctagcg
gacgccaaaaa actcaatgt 8820 tttctgagga agcgtggtgc ataatgccac gcagcgtctg
cataactttt attatttctt 8880 ttatataatca acaaaatttt gttttaaaca tttcaaaaaaa
aaaaaaaaaaa aaaaaaaaaaa 8940 aaaaaaaaaa aggaaattcc tcgattaatt aagcggccgc
tcgagggaa ttaattcttg 9000 aagacgaaag ggccaggtgg cactttcgg gaaatgtgc
gcggAACCCC tatttgttta 9060 ttttctaaa tacattcaaa tatgtatccg ctcatgagac
aataaccctg ataaatgctt 9120 caataatccc tcgtccacgt ggcacatcgaa gacctttatt
ccaaggcgtc gaaccactga 9180 cgactaccct gtactcaggg cttaagccat ccaacgaact
caccactgtt gctacccccc 9240 tcattatgct agtcctacta agggcatggc tagcctttt
tcggccttcg ctgagaggga 9300 tttgttccct aggccataatt attatttta attgccccat
acgtatacga gtgcctttc 9360 taattctcgat atactatagt gagtcgtatt atctagccgc
ccggccgtc gaccaattct 9420 catgtttgac agcttatcat cgaattctg ccattcatcc

gcttattatc acttatttcag 9480 gcgttagcaac caggcggtta agggcaccaa taactgcctt
aaaaaaaatta cgccccggcc 9540 tgccactcat cgcaactgt ttgttaattca ttaagcattc
tgccgacatg gaagccatca 9600 caaacggcat gatgaacctg aatcgccagc ggcattcagca
ccttgtcgcc ttgcgtataa 9660 tatttgccta tggtaaaaac gggggcgaag aagttgtcca
tattggccac gttaaatca 9720 aaactggtga aactcaccca gggattggct gagacgaaaa
acatattctc aataaaccct 9780 ttagggaaat aggccagggtt ttcaccgtaa cacgccacat
cttgcgaata tatgtgtaga 9840 aactgccgga aatcgctgt gtattcactc cagagcgatg
aaaacgtttc agttgctca 9900 tggaaaacgg tggtaacaagg gtggacacta tcccatatca
ccagctcacc gtcttcattt 9960 gccatacgga attccggatg agcattcatc aggcgggcaa
gaatgtgaat aaaggccgga 10020 taaaacttgt gcttattttt cttaacggtc tttaaaaagg
ccgtaatatc cagctgaacg 10080 gtctggttat aggtacattt agcaactgac tgaaatgcct
caaaatgttc tttacgatgc 10140 cattggata tatcaacggt ggtatatcca gtgattttt
tctccatttt agttccctta 10200 gctcctgaaa atctcgataa ctcaaaaaat acgcccggta
gtgatcttat ttcatatgg 10260 tgaaagttgg aacctcttac gtgccgatca acgtctcatt
ttcgccaaaa gttggcccg 10320 ggcttccgg tatcaacagg gacaccagga tttattttt
ctgcgaagtg atctccgtc 10380 acaggtattt attcgcgata agctcatgga gcggcgtaac
cgtcgcacag gaaggacaga 10440 gaaagcgcgg atctggaaag tgacggacag aacggtcagg
acctggattt gggaggcggt 10500 tgccggcgt gctgctgacg gtgtgacgtt ctctgttccg
gtcacaccac atacgttccg 10560 ccattcctat gcgatgcaca tgctgtatgc cggtataaccg
ctgaaagttc tgcaaagcct 10620 gatggacat aagtccatca gttcaacggaa agtctacacg
aaggttttt gctggatgt 10680 ggctgcccgg caccgggtgc agttgcgt gccggagtct

gatgcggttg cgatgctgaa 10740 acaattatcc tgagaataaa tgcctggcc tttatatgga
aatgtggAAC tgagtggata 10800 tgctgtttt gtctgttaaa cagagaagct ggctgttac
cactgagaag cgaacgaaac 10860 agtcggaaa atctcccatt atcgttagaga tccgcattat
taatctcagg agcctgtgta 10920 gcgttatAG gaagtatgt tctgtcatga tgcctgcaag
cggtAACGAA aacgatttgA 10980 atatgccttc aggaacaata gaaatcttcg tgcgggttA
cgTTGAAGTG gagcggatta 11040 tgtcagcaat ggacagaaca acctaATgAA cacagaacca
tgatgtggTC tgtcctttA 11100 cagccagtag tgctcgccgc agtcgagcga cagggcgaag
ccctcgagTG agcgaggaag 11160 caccagggaa cagcacttat atattctgct tacacacgat
gcctgaaaaa acttcccttg 11220 gggtatcca cttatccacg gggatatttt tataattatt
tttttatAG ttttagatc 11280 ttctttttA gagcgcccttg taggccttA tccatgctgg
ttctagagaa ggtgttgtgA 11340 caaattgccc tttcagtgta acaaATcAcc ctcaaATgAc
agtccTgtct gtgacAAatt 11400 gcccttaacc ctgtgacAAA ttgccctcag aagaagctgt
ttttcacAA agttatccct 11460 gcttattgac tctttttat ttagtgtgac aatctaaaaa
cttgcacac ttcacatgga 11520 tctgtcatgg cgaaacagc ggttatcaat cacaagaaac
gtaaaaatAG cccgcaatc 11580 gtccagtcaa acgacctcac tgaggcggca tatagtctct
cccgggatca aaaacgtatg 11640 ctgtatctgt tcgttgacca gatcagaaaa tctgatggca
ccctacagga acatgacggT 11700 atctgcgaga tccatgtgc taaatatgct gaaatattcg
gattgacctc tgcggaagcc 11760 agtaaggata tacggcaggc attgaagagt ttgcggggga
aggaagtggT ttttatcgc 11820 cctgaagagg atgccggcga tgaaaaaggc tatgaatctt
ttccttggtt tatcaaACgt 11880 ggcacagtc catccagagg gcttacagt gtacatatca
accatataCT cattcccttc 11940 ttatcggt tacagaaccg gttacgcag ttgcggcttA

gtgaaaacaaa agaaatcacc 12000 aatccgtatg ccatgcgtt atacgaatcc ctgtgtcagt
atcgtaagcc ggatggctca 12060 ggcatcgct ctctgaaaat cgactggatc atagagcggt
accagctgcc tcaaagttac 12120 cagcgatgc ctgacttccg ccggccgttc ctgcaggct
gtgttaatga gatcaacagc 12180 agaactccaa tgccgccttc atacattgag aaaaagaaaa
gccgccagac gactcatatc 12240 gtatcccct tccgcgatat cactccatg acgacaggat
agtctgaggg ttatctgtca 12300 cagatttgag ggtgggtcgat cacattgtt ctgacccat
gagggttaatt tgtcacagtt 12360 ttgcgtttc cttcagcctg catggattt ctcatactt
ttgaactgta atttttaagg 12420 aagccaaatt tgagggcagt ttgtcacagtt tgatttcctt
ctcttcct tcgtcatgtg 12480 acctgatatc gggggtagt tcgtcatcat tgatgagggt
tgattatcac agtttattac 12540 tctgaattgg ctatccgcgt gtgtacctct acctggagtt
tttcccacgg tggatattc 12600 ttcttgcgtc gagcgtaaaga gctatctgac agaacagttc
ttcttgctt cctcgccagt 12660 tcgctcgcta tgctcggtt cacggctgctg gcgagcgctt
gtgataataa gtgactgagg 12720 tatgtgctct tcttatctcc tttgttagtg ttgctttat
tttaaacaac ttgcggttt 12780 ttgtatgact ttgcgatttt gtttgtcctt tgcagtaaat
tgcaagatTT aataaaaaaa 12840 cgcaaagcaa tgattaaagg atgttcagaa tgaaactcat
ggaaacactt aaccagtgca 12900 taaacgctgg tcatgaaatg acgaaggcta tcgcccattgc
acagtttaat gatgacagcc 12960 cggaagcgag gaaaataacc cggcgctgga gaataggtga
agcagcggat ttatgggg 13020 ttcttctca ggctatcaga gatgccgaga aagcagggcg
actaccgcac ccggatatgg 13080 aaattcgagg acgggttgag caacgtttt gttatacat
tgaacaaatt aatcatatgc 13140 gtgatgttt tggtacgcga ttgcgacgtt ctgaagacgt
atttccaccg gtgatcgcccc 13200 ttgcgtccca taaaggtggc gtttacaaaa cctcagttt

tgttcatctt gctcaggatc 13260 tggctctgaa ggggctacgt gtttgctcg tggaaggtaa
cgacccccag ggaacagccct 13320 caatgtatca cggatggta ccagatctc atattcatgc
agaagacact ctccctgcctt 13380 tctatcttgg ggaaaaggac gatgtcactt atgcaataaa
gcccaacttgc tggccggggc 13440 ttgacattat tccttcctgt ctggctctgc accgtattga
aactgagtttta atgggcaaatt 13500 ttgatgaagg taaactgccc accgatccac acctgatgct
ccgactggcc attgaaactgt 13560 ttgctcatga ctatgatgtc atagttatttgc acagcgcgcc
taacctgggt atcggcacga 13620 ttaatgtcgt atgtgctgct gatgtgctga ttgttccac
gcctgctgag ttgtttgact 13680 acacctccgc actgcagttt ttgcataatgc ttctgtatct
gctcaagaac gttgatctta 13740 aagggttcga gcctgatgtt cgtatttgc ttaccaaata
cagcaatagt aatggctctc 13800 agtccccgtg gatggaggag caaattcggg atgcctgggg
aagcatggtt ctaaaaaaatg 13860 ttgtacgtga aacggatgaa gttggtaaag gtcagatccg
gatgagaact gttttgaac 13920 aggccatttga tcaacgctct tcaactggtg cctggagaaa
tgcttttctt atttggaaac 13980 ctgtctgcaa tgaattttc gatgtctga ttAAaccacg
ctgggagatt agataatgaa 14040 gcgtgcgcct gttattccaa aacatacgct caataactcaa
ccggttgaag atacttcgtt 14100 atcgacacca gctccccga tggatggattc gttattgcg
cgcgttaggag taatggctcg 14160 cggttaatgcc attacttgc ctgtatgtgg tcggatgtg
aagtttactc ttgaagtgt 14220 ccgggggtgat agtggatgaga agacctctcg ggtatggta
ggtaatgaac gtgaccagga 14280 gctgcttact gaggacgcac tggatgtatct catcccttct
tttctactga ctggtaaca 14340 gacaccggcg ttcggatcgaa gagtatctgg tgtcatagaa
attgccgatg ggagtgcggc 14400 tcgtaaagct gctgcactt ccgaaagtga ttatcggtt
ctgggtggcg agctggatga 14460 tgagcagatg gctgcattat ccagattggg taacgattat

cgcccaacaa gtgcttatga 14520 acgtggtcag cgttatgcaa gccgattgca gaatgaattt
gctggaaata tttctgcgct 14580 ggctgatgcg gaaaatattt cacgttaagat tattaccgc
tgtatcaaca ccgccaatt 14640 gcctaaatca gtttgtctc tttttctca ccccggtgaa
ctatctgccc ggtcaggtga 14700 tgcacttcaa aaagccttta cagataaaga ggaattactt
aagcagcagg catctaacct 14760 tcatgagcag aaaaaagctg gggtgatatt tgaagctgaa
gaagttatca ctctttaac 14820 ttctgtgctt aaaacgtcat ctgcatcaag aactagtta
agctcacgac atcagtttgc 14880 tcctggagcg acagtattgt ataagggcga taaaatggtg
cttaacctgg acaggtctcg 14940 tgttccaact gagtgtatag agaaaattga ggccattctt
aaggaacttg aaaagccagc 15000 accctgatgc gaccacgtt tagtctacgt ttatctgtct
ttacttaatg tcctttgtta 15060 cagggcagaa agcataactg gcctgaatat tctctctggg
cccactgttc cacttgtatc 15120 gtcggctctga taatcagact gggaccacgg tcccactcgt
atcgtcggtc tgattattag 15180 tctgggacca cggtcccact cgtatcgtcg gtctgattat
tagtctggga ccacggtccc 15240 actcgtatcg tcggctctgat aatcagactg ggaccacgg
cccactcgta tcgtcggtct 15300 gattattagt ctgggaccat ggtcccactc gtatcgtcgg
tctgattatt agtctgggac 15360 cacggtccca ctcgtatcgt cggctctgatt attagtcgg
aaccacggtc ccactcgat 15420 cgtcggtctg attattagtc tgggaccacg gtcccactcg
tatcgtcggt ctgattatta 15480 gtctgggacc acgatccac tcgtgttgc ggtctgatta
tcggctctggg accacggtcc 15540 cacttgtatt gtcgatcaga ctatcagcgt gagactacga
ttccatcaat gcctgtcaag 15600 ggcaagtatt gacatgtcgt cgtaacctgt agaacggagt
aacctcggtg tgcgggtgt 15660 tgcctgctgt ggattgctgc tgtgtcctgc ttatccacaa
catttgcgc acggttatgt 15720 ggacaaaata cctggttacc caggccgtgc cggcacgtta

accgggctgc atccgatgca 15780 agtgtgtcgc tgtcgacgag ctcgcgagct cggacatgag
gttccccgt attcagtgtc 15840 gctgatttgt attgtctgaa gttgtttta cgtaagttg
atgcagatca attaatacga 15900 tacctgcgtc ataattgatt atttgacgtg gtttgatggc
ctccacgcac gttgtgatat 15960 gtagatgata atcattatca cttaacgggt ctttccgg
gatccgacag gttacggggc 16020 ggccgacctcg cgggtttcg ctatttatga aaattttccg
gtttaaggcg tttccgttct 16080 tcttcgtcat aacttaatgt ttttatttaa aataccctct
gaaaagaaaag gaaacgacag 16140 gtgctgaaag cgagctttt ggcctctgtc gtttccttgc
tctgttttg tccgtggaat 16200 gaacaatgga agtccgagct catcgcta aacttcgtat
agcatacatt atacgaagtt 16260 atattcgatg cggccgctga ggtctgcctc gtgaagaagg
tgttgctgac tcataccagg 16320 gctgaatcgc cccatcatcc agccagaaag tgagggagcc
acggttgatg agagctttgt 16380 tgttaggtgga ccagttgggt atttgaact ttgtttgc
cacggaacgg tctgcgttgt 16440 cgggaagatg cgtgatctga tccttcaact cagcaaaagt
tcgatttatt caacaaagcc 16500 acgtgtctca aaatctctga ttttacattt cacaagataa
aaatatatca tcatgaacaa 16560 taaaactgtc tgcttacata aacagtaata caaggggtgt
tatgagccat attcaacggg 16620 aaacgtcttg ctcgacgatg ataagctgtc aaacatgaga
attgggtcgt caatatgcta 16680 aaacgcggca taccggcgat attcccaacta gtttatttaac
ctgcaggggg ctgttagagg 16740 tcttccttag tccaaactata gcgtatggac atattgtcgt
tagaacgcgg ctacaattaa 16800 tacataacct tatgttatcat acacatacga tttagggac actata
16847 <210> 43 <211> 18563 <212> DNA <213> Artificial Sequence <220> <
223> sequence for pBACSP6/JVFL/XhoI <400> 43 agaagttat ctgtgtgaac ttcttggctt
agtatcggtt agaagaatcg agagattgt 60 gcagttaaa cagttttta gaacggaaaga

taaccatgac taaaaaacca ggagggcccg
gcggcctacc ccgcgttattc ccactagtgg
acggcagagg accagtagt ttcgtgctgg
tagccccgac caaggcgctt ttaggccat
aacatcttac tagttcaaa cgagaacttg
gcagaaaagca aaacaaaaga ggaggaaatg
cagttgtcat agcttgttta ggagccatga
tgaccattaa caacacggac attgcagacg
acagatgctg ggtccggca atcgatgtcg
aatgtcctaa gcttaccatg ggcaatgatc
aagaagtcta cgtccatat ggacggtgca
ggtccgtgtc ggtccaaaca catggggaga
tggattcaac gaaagccaca cgatatctca
ctggctatgc ttccctggcg gcggtaacttg
gcgtgggtt taccatcctc ctgctgtgg
gaatggcaa ccgtgacttc atagaaggag
tagaaggaga tagctgcttg acaatcatgg
tgattaacat cgaagccagc caacttgctg
tcactgacat ctgcacggtg gctcggtgcc
gagctgatag tagctatgtg tgcaaacaag
gtggactttt cggttggaa agcattgaca
120 gtaaaaaccg ggcttatcaat atgctgaaac
180 gagtgaagag ggttagtaatg agcttgtgg
240 ctcttatcac gttcttcaag tttacagcat
300 ggaaagcagt ggaaaagagt gtggcaatga
360 gaacactcat tgacgcccgtg aacaagcggg
420 aaggctcaat catgtggctc gcgagtttgg
480 agttgtcaaa ttccaaggaa aagctttga
540 tcatcgtgat tcctacactca aaaggagaga
600 gctacatgtg tgaggacact atcacgtacg
660 cagaggatgt ggattgctgg tgtgacaacc
720 cgccggaccag gcattccaag cgaaggcagga
780 gttcactagt gaataaaaaa gaggcttggc
840 tgaaaactga gaactggatc ataaggaatc
900 gctggatgtc tggcagtaac aatggtcaac
960 tcgctccggc ttacagttt aattgtctgg
1020 ccagtggagc cacttgggtg gacttagtgc
1080 caaacgacaa accaacattg gacgtccgca
1140 aggtcagaag ctactgctat catgcttcag
1200 ccacgactgg agaagccac aacgagaagc
1260 gtttcaactga tcgtgggtgg ggcaacggat
1320 catgtgcaaa attctcctgc accagtaagg

cgattggag aacaatccag ccagaaaaca
gaaccaccac ctcggaaaac catggaaatt
caaagtttac agtaaacaccc aatgctcctt
aagtcacact ggactgtgaa ccaaggagtg
ccgtgggtc aaagtcattt ctggccata
ggacgtcccc ttcgagcaca gcgtggagaa
cgcacgccac aaaacagtcc gttgttgctc
cgctggcagg agccatcgtg gtggagtact
tgaatgtag gctgaaaatg gacaaactgg
cagaaaaatt ctcgttcgca aaaaatccgg
aactctcta ttctggagt gatggccct
tcaatgacat gaccccggtt gggcggctgg
gtgccaactc aaaggtgctg gtcgagatgg
ttggaagggg agacaagcag atcaaccacc
aggcttttc aacaactttg aaggagctc
gggactttgg ctctattgga ggggtttca
tttgtggcgc tticagaaca ctctttgggg
gtgccctact actctggatg ggcataacg
tggccacagg aggtgtgctc gtgttcttag
ccattgacat cgcaagaaaa gagatgagat
tggaaaggctg ggtggatagg tataaatatt
1380 tcaaatacga agtggcatt tttgtgcatt
1440 attcagcgca agtagggcgc tcccaggcgg
1500 cgataaccct caaacttggt gactacggag
1560 gactgaacac tgaagcgttt tacgtcatga
1620 gggaaatggtt tcatgacctc gctctccct
1680 acagagaact cctcatggaa tttgaagagg
1740 ttgggtcaca ggaaggaggc ctccatcagg
1800 caagctcagt gaagtttaca tcaggccacc
1860 ctctgaaagg cacaacctat ggcattgtta
1920 cggacactgg ccacggaaaca gttgtcattt
1980 gcaaaattcc gattgtctcc gttgcgagcc
2040 tgacagtgaa ccccttcgtc gcgacttcca
2100 aaccccccattt cggagactcc tacatcgtag
2160 attggcataa agctggaagc acgctggca
2220 aaagactggc agcgttgggc gacacagcct
2280 actccatagg aaaggccgtt caccaagtgt
2340 gaatgtttt gatcacacaa gggtaatgg
2400 cacgagatcg atcaattgct ttggcccttct
2460 cgaccaatgt gcatgctgac actggatgtg
2520 gcggaaatgg catttcgtc cacaacgacg
2580 tgccagaaac gcccagatcc ctagcgaaga

tcgtccacaa agcgacacaag gaaggcgtgt
accaaatgtg ggaagccgtg cgggacgaat
acctcagtgt ggttgtgaac aagcccgtag
ccatgacgca agagaagttt gaaatggct
ccccggaatt ggctaactcc acatttgtt
atgagcacag agcctggaac agcatgc当地
cccggtgtg gctgaagatt agagaggaaa
gcacagctgt caaaggacat gtggcagttc
gctacaacga cacatggaaa cttgagaggg
ggccagagac acacactctt tggggagatg
ataccatagc cggacaaaaa agcaagcaca
agggaccttg ggacgaaaac ggcatagtct
tcaccatcac agaggattgt ggcaagagag
gaaagtgtat tactgactgg tgctgtcgca
cagaaaaatgg ctgctggtag ggaatggaaa
tcgtcagatc acaggttgat gcttcaatg
ttctggtagt gttctggcc acccaggagg
ccattcctgc ggtttgggg gccctgctt
atttggcgag gtatgtggtg ctatcgctg
acgtcctgca ctttgcttg attgccgtt
acatgcttag cacgagatgg acgaaccaag
2640 gcggagtcag atctgtcaact agactggagc
2700 tgaacgtcct gctcaaagag aatgcagtgg
2760 ggagatatcg ctcagcccca aaacgcctgt
2820 ggaaagcatg gggaaaaaagc attctcttg
2880 tagatggacc tgagacaaag gaatgtcctg
2940 tcgaagactt cggtttgggt atcacatcaa
3000 gcactgacga gtgtgatgga gcgatcatag
3060 atagtgactt gtcgtactgg attgagagtc
3120 cagttttgg agaggtcaaa tcttgcactt
3180 gtgttgagga aagtgaactc atcatccgc
3240 atcgaggaga agggtaaaaa acacaaaacc
3300 tggacttga ttattgccc gggacaaaaag
3360 gcccttcggt cagaaccact actgacagtg
3420 gttgctccct tccgccccta cgattccgga
3480 tcagacctgt taggcatgat gaaacaacac
3540 gtgaaatggt tgacccttt cagctggcc
3600 tccttcgcaa gaggtggacg gccagattga
3660 tgctgatgct tgggggcatc acttacactg
3720 ctgcttcgc agaggccaat aatggaggag
3780 ttaagatcca accagcttt ctatgtatga
3840 aaaacgtggt cctggccta gggctgcct

tcttcaatt ggcctcagta gatctgcaa
ctatagcatg gatgattgtt cgagcgatca
cagtcttagc gcttctaact ccggaaatga
tccttctcggt catagggatt tgctccctgc
agaaaggagc tgtactcttg ggcttagcgc
ccatagctgc tggactaatg gtctgcaacc
agtttctgtc ggcagtcgga ttgatgttg
ttgaatccat gtcaataccc ttcatgctgg
cagaaaaagc aacagatatg tggctcgaac
ctgcaatcac aggaagcagt cggaggctgg
acttgattga tgateccggc gttccatgga
gcttagccgc cctcacgcct tggccattg
taaaaacaac aaaaagaggg ggcgtgttt
aaggagacac cactacagga gtctaccgaa
aggctggcgt cggagtcgt tacgagaatg
ggcagccat tatgagtgga gaaggaaaat
accgcatagc ttacggaggc ccatggagat
tgcaagtgtat cgtggtagaa ccggggaaagg
tgtttcggac ccccttcggg gaggttgggg
ccggctcacc cattctggat tccaatggag
agcttggcga tggctcatac gtcaagcgcca
3900 tcggagtcga cggaatcctg aatgccgccc
3960 cttccccac aacccctcc gtcaccatgc
4020 gggctctata cctagacact tacagaatca
4080 tgcaagagag gaaaaagacc atggcaaaaa
4140 tcacatccac tggatggttc tcgcccacca
4200 caaacaagaa gagagggtgg ccagctactg
4260 ccatcgtagg tggtttggcc gagttggata
4320 caggtcttat ggcagtgtcc tacgtagtgt
4380 gggccgcccga catcagctgg gagatggatg
4440 atgtgaaact ggatgatgac ggagatttc
4500 aagtttgggt ctgcgcattg tcttgcattg
4560 ttcccgccgc ttccgttac tggctcactt
4620 gggacacgccc atccccgaaa cttgtctaa
4680 tcatggctag agggattttt ggcacctacc
4740 tttccacac actatggcac acaactagag
4800 tgacgccata ctggggtagc gtgaaagaag
4860 ttgatcgaaa atggaatgga acagatgacg
4920 ctgcggtaaa catccagaca aaaccaggag
4980 ctgttagcct ggattacccg cgaggaacat
5040 acatcatagg cctatacggc aatggagttg
5100 tcgtgcaggg tgaccgtcag gaggaaccag

tcccagaagc ttacactcca aacatgttaa
accctggttc agggaaaacc agaaaaattc
agccgctaag aacagctgtg ttggcaccga
cttgagagg gctcccagta cgataccaaa
atgaaatagt ggatgtgatg tgccacgc
gagtgcccaa ctacaatctg tttgtcatgg
tagccgcacg aggatacatc gctaccaagg
tgacagcgac cccgcctgga accacggatc
attacaaga tgagatacca gacagggcat
atgcggtaa aaccgtgtgg tttgtggcga
gcctccaaag agcggaaaaa aaggtcatcc
acccaaaatg taagaatgga gactgggatt
gggctaactt cggtgcgagc agggtcatcg
tagaagaggg agaaggcaga gtcattctcg
cagctcaacg gagggcaga gttagcagaa
atggaggggc taccagtgaa gatgacagta
tgttagacaa catacacatg cccaatggc
aaaaggctt cacaatggat ggcgaatacc
tagagctgct taggacggct gacccctcg
gcattcagta caccgacaga aagtggtgg
aggacaacac cgaggttagag atagtcaccc
5160 gaaagagaca gatgactgtg ttagattgc
5220 tgccacaaat aattaaggat gcaatccagc
5280 cgcgggttgt agcagcagaa atggcagaag
5340 cttcagcagt gcagagagag caccaaggga
5400 ctctgaccca cagattgtg tcaccgaaca
5460 atgaagctca tttcaccgac ccagccagca
5520 tggaaattagg agaggcagca gccatctta
5580 cttttccgaa ctcaaattgcc ccaatccatg
5640 ggagcagtgg atacgaatgg atcacagaat
5700 gcgtaaaaat gggaaatgag attgcaatgt
5760 aactcaaccg caagtccat gacacagaat
5820 ttgtcattac caccgacatc tctgaaatgg
5880 actgcagaaa gagcgtgaaa cccaccatct
5940 gaaaccatc tccataacc agtgctagcg
6000 accccaacca agttggagat gaataccatt
6060 acctagccca ttggacagag gcaaagatca
6120 tggtgccca gctctatgga ccagagaggg
6180 gtctcagggg tgaagaaaag aaaaacttct
6240 tgtggctggc ctataaggtg gcgtccaaatg
6300 ttgatgggcc ggcacgaat gccatactgg
6360 ggatgggtga gagaagatc ctcaagccga

gatggcttga tgcaagagta tacgcagatc
cagcaggaaa gagatcgccc gtttagcttca
tcatggaa gacgcggaa gcttttagaca
gtgggaaggc acaccgaatg gctctcgaag
ttattgttgc catcaactgta atgacaggag
gtatagggaa gatgggtctt ggagctctag
cgccagaggt tccttggacc aaaaatagcag
tggttctcat cccagaaccg gaaaaacaga
ttctcatctg cgtcttgacc gtggttggag
aaaaaaaccaa agcagatctc aagagcatgt
ctggattgcc aagcatggca ctggacctgc
ggagcacagt tgtgctaacc cctcttctga
catcgctagc ctaattAAC tcacaaggctg
cttcaccga tctagacctg accgttggcc
ccctcacaac gttttgaca gccatggtc
ctggatggca agcagaagca ctcagggctg
agaatgccgt tgttgacgga atggtcgcca
ctctgatgca aaagaaaagtc ggacagggtgc
tcgtcaaccc taatgtcacc actgtgagag
tcaccttgtg ggataatgga gccagtggcg
gccatgtcat gcgaggtagc tacctggctg

6420 accaaggccct caagtggttc aaagactttg
6480 tagaggtgct cggtcgcatg cctgagcatt
6540 ccatgtactt ggtcgcaacg gctgagaaag
6600 agttgccgga tgcactggaa accatcacac
6660 gattcttcct actaatgatg cagcgaagg
6720 tgctcacgct agctacccctc ttccctgtgg
6780 ggaccctgct gatgcctctg ctgctgatgg
6840 ggtcacagac agacaaccaa ctagcggtgt
6900 tggtgccagc aaacgagtac gggatgctag
6960 ttggcgaaaa gacacaggca tcaggactga
7020 gtccagccac agcctggca ctgtatgggg
7080 agcacctgat cacgtcgaa tatgtcacca
7140 gctcattatt cgtcttgcca cgaggcgtgc
7200 tcgtcttcct tggctgctgg ggtcaaatca
7260 tggcgacact tcactatggg tacatgctcc
7320 cccagagaag gacggcggct ggaataatga
7380 ctgatgtgcc tgaactggaa aggactactc
7440 tcctcatagg ggtgagcgtg gcagcgtttc
7500 aagcaggggt gttggtgacg gcggctacgc
7560 tttggaaattc caccacagcc acgggactct
7620 gaggcttat tgcttggact cttatcaaga

acgctgacaa gccctccttg aaaagggaa
ggaaggaaaa actaaatgcc atgagcagag
taatcgaggt ggaccgcact gaagcacgca
gacatccggt ttgcgaggc tcagcaaaac
cgccaatagg aaaagtatt gatctagggt
caaccctgaa gaaggtccag gaagttag
agccgatgct catgcagagc tacggctgga
tgttctacaa acttcagag cctagtgaca
caagtccaga agtggaaagaa caacgcacac
tgcatacgagg acccagagag ttctgcataa
tagaaaaaaat ggaagttctg cagcgccgt
cccgaaaactc caatcacgag atgtattggg
ctgtgaacat gaccagccag gtactactgg
caaagtatga ggaagatgtc aacctaggta
ttcatagcaa tcaggagaaa atcaagaaga
caacgtggca caaagaccct gaacacccat
aggtgaaggc tactggctca gccagcttc
aaccttggga cgccattgcc aacgtcacca
gacagcaaag agtttcaag gagaaagtgt
tcaaggaagt gctcaacgag accaccaact
gaccccgctt gtgcaccaag gaagaattta
7680 ggcctggggg caggacgcta ggggagcagt
7740 aagagtttt taaataccgg agagaggcca
7800 gggctagacg tgaaaataac atagtggag
7860 tccgttggct cgtggagaaa ggattcgtct
7920 gtggcgtgg aggatggagc tactacgcag
7980 gatacacgaa aggtggggcg ggacatgaag
8040 acctggtctc cttaagagt ggagtggatg
8100 ccctgttctg tgacataggg gaatcctccc
8160 tacgcgtcct agagatgaca tccgatttgt
8220 aagttctctg cccttacatg cccaaaggta
8280 tcggagggtgg gctagtagt ctccttgt
8340 ttagtggagc cgctggcaat gtggcgcacg
8400 ggcgaatgga tcgcacagtg tggagaggc
8460 gcggacaacaag agccgtggaa aaggagaag
8520 gaatccagaa gcttaagaa gaattcgcca
8580 accgcacttg gacataccac ggaagctatg
8640 tcgtcaacgg agtggtgaag ctcatgagta
8700 ccatggccat gactgacacc acccctttt
8760 acacgaaagc tcctgagcca ccagctggag
8820 ggctgtgggc ccacttgtca cggaaaaaaa
8880 taaagaaagt caatagcaac gcggctttg

gagcagtgtt tgctgaacag aatcaatgg
ggtttgaaaa gatggtaat gaagagaggg
gtatctacaa catgatggaa aaaagagaga
ggagcaggcc cattgggttc atgtggctt
ggttcctgaa tgaagaccac tggctgagcc
caggcgccca aaagttggaa tacatcctcc
tgtacgctga tgacaccgcc ggggtggaca
aagctaaggt gctggagctc ctagatggt
aactgactta caggcacaaa gtggtaagg
tcatggacgt gatatcaaga gaagacaaa
tcaacactt cacgaacatc gctgtccagc
ttggccaca acacttgaa cagctgccta
tcttgagaa tggagaggag agagtgacca
tcaagccgct ggacgacaga ttgcacgg
tttagaaaaga catccagggaa tggaaaccc
ccttctgctc taaccactt caggagattg
cgtgcagagg acaggatgag ctgataggca
atgtgaagga cacagcttgc ctggcaaaag
tccatcgtag ggacctgcgt ctcatggcaa
gggtgcccac aggcaggaca tcctggtaa
aagacatgct gcaggtctgg aacagagtct
8940 gcacggcgcg tgaggctgtg gacgacccgc
9000 aaaaccatct gcgaggagag tgtcacat
9060 agaaggctgg agagtttggaa aaagctaaag
9120 gagcacggta tctagagttt gaagctttgg
9180 gagagaattc aggaggtggaa gttagaggct
9240 gtgacatagc aggaaagcaa ggagggaaaa
9300 ctagaattac tagaactgat ttagaaaatg
9360 aacaccgcat gctgccccgg gccataattg
9420 tcatgagacc tgcagcagaa ggaaagaccg
9480 gggggagtgg acaggtggtc acttatgctc
9540 tcgttaggct gatggaggct gagggggtca
9600 ggaaaaacaa gatagctgtc aggacttggc
9660 ggatggcgat cagcggagac gactgtgtcg
9720 ccctccattt cctcaacgca atgtcaaagg
9780 cgcacggctg gcacgattgg cagcaagtgc
9840 tcatggaaaga cgaaaggagt atagttgtcc
9900 gggctcgcat ctctccagga gctggatgg
9960 catatgcaca gatgtggcta ctcctataact
10020 atgcgatttg ctacgcgtt ccagtggatt
10080 tacactcgaa aggagagtgg atgaccacgg
10140 ggattgaaga aaatgaatgg atgatggata

agactccgt cacaagctgg acagacgttc
gtggcagcct catcgaaacg cgttccagag
taaaccaggtagagctgtc attggaaag
ggagatacga agacgtcttgc atccaggaag
aatgtaaata atgtgaatga gaaaatgcatt
accggatact gggtagacgg tgctgcctgc
atctgacaac agaaagttag aagccctca
tggaaaggtaga aagaccaacg tcaggccacg
ctgcgcagcc ccaggaggac tgggttacca
cgtctaggat gcaatagacg aggtgttaagg
aacaacatgc ggcccaagcc ccctcgaagc
aggagacccc gcatttgcat caaacagcat
tctgctctat ctcaacatca gctactaggc
aggaagaaca caggatctcg agcggccgcg
agagggatt gttccctagg cctaattatt
cctttctaa ttctcgata ctatgttag
caattctcat gtttgacagc ttatcatcga
tattcaggcg tagcaaccag gcgttaagg
ccgcgcctgc cactcatcgc agtactgttgc
gccatcacaa acggcatgat gaacctgaat
cgtataatat ttgccatgg tgaaaacggg
10200 cgtatgtggg aaagcgttag gacatctgg
10260 caacctgggc tgagaacatc tatgcggcga
10320 aaaattatgt tgactacatg acctcactca
10380 acagggtcat ctatgtgac ttaaggtaga
10440 gtatatggag tcaggccagc aaaagctgcc
10500 gtctcagtc caggaggact gggtaacaa
10560 gaaccgtctc ggaagtaggt ccctgctcac
10620 aatttgtgcc actccgctgg ggagtgcggc
10680 aagccgttga ggccccacg gcccaagcct
10740 actagaggtt agaggagacc ccgtggaaac
10800 tgttagaggag gtggaaaggac tagaggttag
10860 attgacacact gggaatagac tggagatct
10920 acagagcgcc gaagtatgtt gctgggggt
10980 gaccgactag cctctttcg gccttcgctg
11040 atttttaatt gcccaatacg tatacgagt
11100 tcgtattatc tagccgcccc ggccgtcgac
11160 atttctgcca ttcatccgct tattatcact
11220 gcaccaataa ctgccttaaa aaaattacgc
11280 taattcatta agcattctgc cgacatggaa
11340 cgccagcggc atcagcacct tgtgccttg
11400 ggcgaagaag ttgtccatat tggccacggtt

taaatcaaaa ctggtgaaac tcacccaggg
aaacccttta gggaaatagg ccaggtttc
gtgtagaaac tgccgaaat cgtcggtta
ttgctcatgg aaaacggtgt aacaagggtg
ttcattgcc atacggaatt ccggatgagc
ggccggataa aacttgtgct tattttctt
ctgaacggtc tggtatagg tacattgagc
acgatgccat tggatataat caacggtggt
ttccttagct cctgaaaatc tcgataactc
attatggtga aagttggaac ctcttacgtg
ggcccagggc ttcccggtat caacaggcac
ttccgtcaca ggtatttatt cgcgataaagc
ggacagagaa agcgccgatc tggaaagtga
aggcggttgc cgccgctgct gctgacggtg
cgttccgcca ttccatgct atgcacatgc
aaagcctgat gggacataag tccatcagtt
tggatgtggc tgccggcac cgggtgcagt
tgctgaaaca attatcctga gaataaatgc
gtggatatgc tgttttgtc tggtaaacag
acgaaacagt cggaaaatc tcccattatc
ctgttagcg tttataggaa gtgtgttct
11460 attggctgag acaaaaaaca tattctaat
11520 accgtAACAC gccacatctt gcgaatatat
11580 ttcaCTCCAG agcgatgaaa acgtttcagt
11640 aacactatcc catatcacca gtcaccgtc
11700 attcatcagg cggcaagaa tgtgaataaa
11760 tacggtctt aaaaaggccg taatatccag
11820 aactgactga aatgcctcaa aatgttctt
11880 atatccagtg attttttctt ccatttttagc
11940 aaaaaatacg cccggtagtg atcttatttc
12000 ccgatcaacg tctcattttc gccaaaagtt
12060 accaggattt atttattctg cgaagtgtac
12120 tcatggagcg gcgttaaccgt cgcacaggaa
12180 cggacagaac ggtcaggacc tggattgggg
12240 tgacgttctc tggccggc acaccacata
12300 tgtatgccgg tataccgctg aaagtctgc
12360 caacggaaatg ctacacgaag gttttgcgc
12420 ttgcgtatgcc ggagtctgat gcgggtgcga
12480 ctggccctt atatggaaat gtggaaactga
12540 agaagctggc tggatccac tgagaagcga
12600 gtagagatcc gcattattaa tctcaggagc
12660 gtcatgtatgc ctgcaagcgg taacgaaaac

gatttgaata tgccttcagg aacaatagaa
cggattatgt cagcaatgga cagaacaacc
cctttacag ccagtagtgc tcggccgagt
gaggaagcac cagggAACAG cacttatata
tcccttgggg ttatccactt atccacgggg
ttagatcttc ttttttagag cgccttgtag
gttgtgacaa attgccttt cagtgtgaca
acaaattgcc cttaaccctg tgacaaattg
tatccctgct tattgactct tttttattta
acatggatct gtcattggcgg aaacagcggt
gcgaatcgtc cagtcAAACG acctcactga
acgtatgctg tatctgttcg ttgaccagat
tgacggtatac tgcgagatcc atgttgctaa
ggaagccagt aaggatatac ggcaggcatt
ttatgcctt gaagaggatg ccggcgatga
caaacgtgcg cacagtccat ccagaggcgt
tcccttcttt atcgggttac agaaccgggt
aatcaccaat ccgtatgcc tgcgttata
tggctcaggc atcgctctc tggaaatcga
aagttaccag cgtatgcctg acttccgccc
caacagcaga actccaaatgc gcctctcata

12720 atcttcgtgc ggtgttacgt tgaagtggag
12780 taatgaacac agaaccatga tgtggctgt
12840 cgagcgacag ggcgaagccc tcgagtgagc
12900 ttctgcttac acacgatgcc tgaaaaaaact
12960 atattttat aatttttttt tttatagttt
13020 gcctttatcc atgctggttc tagagaaggt
13080 aatcaccctc aaatgacagt cctgtctgt
13140 ccctcagaag aagctgtttt ttcacaaagt
13200 gtgtgacaaat ctaaaaactt gtcacacttc
13260 tatcaatcac aagaaacgta aaaatagccc
13320 ggccgcataat agtctctccc gggatcaaaa
13380 cagaaaatct gatggcaccc tacaggaaca
13440 atatgctgaa atattcggat tgacctctgc
13500 gaagagtttgcggggagg aagtggttt
13560 aaaaggctat gaatctttc cttggtttat
13620 ttacagtgtatcatatcaacc catatctcat
13680 tacgcagttt cggcttagtg aaacaaaaga
13740 cgaatccctg tgtcagtatc gtaagccgga
13800 ctggatcata gagcgttacc agctgcctca
13860 ccgccttcctg caggtctgtg ttaatgagat
13920 cattgagaaa aagaaaggcc gccagacgac

tcatatcgta tttccttcc gcgatatcac
13980 ttccatgacg acaggatgt ctgagggtta
tctgtcacag atttgagggt ggttcgta
14040 atttgttctg acctactgag gtaatttgt
cacagtttg ctgttcctt cagcctgcata
14100 ggatttctc atacttttgc aactgtaatt
tttaaggaag ccaaatttga gggcagtttgc
14160 tcacagttga tttccttctc tttcccttc
tcatgtgacc tgatatcgaaa gtttagttcg
14220 tcatcattga tgagggttga ttatcacagt
ttattactct gaattggcta tccgcgtgt
14280 tacctctacc tggagttttt cccacgggtgg
atatttcttc ttgcgctgag cgtaagagct
14340 atctgacaga acagttcttc tttgcttc
cgccagttcg ctgcgtatgc tcggttacac
14400 ggctgcggcg agcgctagtg ataataagt
actgaggat gtgctttct tatctccttt
14460 tgttagtggta ctcttatttt aaacaacttt
gcggttttt gatgactttg cgatttttt
14520 gttgcittgc agtaattgc aagatttaat
aaaaaaaaacgc aaagcaatga ttaaaggatg
14580 ttcagaatga aactcatgga aacacttaac
cagtgcataaa acgctggta taaaatgacg
14640 aaggctatcg ccattgcaca gtttaatgat
gacagccccgg aagcgaggaa aataaccgg
14700 cgctggagaa taggtgaagc agcggattta
gttggggtt cttctcaggc tatcagagat
14760 gccgagaaag cagggcgact accgcacccg
gatatggaaa ttgcaggacg gtttgcacaa
14820 cgtgttggtt atacaattga acaaatttaat
catatgcgtg atgtgtttgg tacgcgattt
14880 cgacgtgctg aagacgtatt tccaccgg
atcggggtt ctgccataa aggtggcg
14940 tacaaaacct cagttctgt tcatcttgc
caggatctgg ctctgaaggg gctacgtgtt
15000 ttgctcggtt aaggtaacga cccccagg
acagcctcaa tgtatcacgg atgggtacca
15060 gatcttcata ttcatgcaga agacactctc
ctgcctttct atcttgggaa aaaggacgt
15120 gtcacttatg caataaagcc cacttgctgg
ccggggcttgc acattattcc ttccgtctg
15180 gctctgcacc gtattgaaac tgagttaatg

ggcaaatttgc atgaaggtaa actgcccacc
gaaactgttg ctcatgacta tgatgtcata
ggcacgatta atgtcgatg tgctgctgat
tttactaca cctccgcact gcagttttc
gatcttaaag ggttcgagcc tgatgtacgt
ggctctcagt ccccgatggat ggaggagcaa
aaaaatgttg tacgtgaaac ggtatgtacgt
tttgaacagg ccattgatca acgctttca
tggAACCTG tctgcaatga aattttcgat
taatgaagcg tgcgcctgtt attccaaaac
cttcgttatac gacaccagct gccccgatgg
tggctcgccgg taatgccatt acttgcctg
aagtgcgtccg gggtgatagt gttgagaaga
accaggagct gcttactgag gacgcactgg
gtcaacagac accggcggttc ggtcgaagag
gtcgccgtcg taaagctgct gcacttaccg
tggatgtga gcagatggct gcattatcca
cttatgaacg tggtcagcgt tatgcaagcc
ctgcgtggc tggatgcggaa aatattcac
ccaaattgcc taaatcagtt gttgccttt
caggtgatgc acttcaaaaaa gccttacag
15240 gatccacacc tggatgcgtccg actggccatt
15300 gttattgaca gcgcgcctaa cctgggtatc
15360 gtgctgatttgc ttcccacgccc tgctgagttg
15420 gatatgcgttc gtgatctgct caagaacgtt
15480 atttgccta ccaaatacag caatagtaat
15540 attcggatg cctgggaag catggttcta
15600 ggttaaggatc agatccggat gagaactgtt
15660 actggtgccct ggagaaatgc tctttctatt
15720 cgtctgatta aaccacgctg ggagattaga
15780 atacgctcaa tactcaaccg gttgaagata
15840 tggattcggtt aattgcgcgc gtaggagtaa
15900 tatgtggtcg ggtatgtgaag tttactcttgc
15960 cctctcggtt atggtcaggt aatgaacgtt
16020 atgatctcat cccttctttt ctactgactg
16080 tatctggtgtt catagaaattt gccgatggga
16140 aaagtgatta tcgtgttctg gttggcgagc
16200 gattggtaa cgattatcgc ccaacaagtgc
16260 gattgcagaa tgaatttgct ggaaatattt
16320 gtaagattat taccgcgtt atcaacaccg
16380 tttctcaccc cggtaacta tctgcccgg
16440 ataaagagga attacttaag cagcaggcat

acggggcggc gacctcgccg gtttcgcta	17760 tttatgaaaa ttccgggtt taaggcgtt
ccgttcttct tcgtcataac ttaatgttt	17820 tatttaaaat accctctgaa aagaaaggaa
acgacagggtg ctgaaagcga gcttttggc	17880 ctctgtcggtt tccttctct gttttgtcc
gtggaatgaa caatggaagt ccgagctcat	17940 cgctaataac ttcgtatagc atacattata
cgaagttata ttgcgtgcgg cgctgaggtc	18000 tgccctgtga agaagggttt gctgactcat
accaggcctg aatcgccccca tcattccagcc	18060 agaaagttag ggagccacgg ttgatgagag
ctttgttgta ggtggaccag ttggtgattt	18120 tgaacttttgc ctttgcacg gaacggctcg
cgttgcggg aagatgcgtg atctgatcct	18180 tcaactcagc aaaagttcga ttattcaac
aaagccacgt gtctcaaaat ctctgatgtt	18240 acattgcaca agataaaaat atatcatcat
gaacaataaa actgtctgct tacataaaaca	18300 gtaatacaag ggggttatg agccatattc
aacgggaaac gtcttgctcg acgatgataa	18360 gctgtcaaaccatgagaattt ggtcgtaat
atgctaaaac gcggcataacc ccgcgtattc	18420 ccactagttt attaacctgc agggggctgt
tagaggtctt ccctagtcctt actatagcgt	18480 atggacatat tgcgtttaga acgcggctac
aattaataca taaccttatg tatcatacac	18540 atacgattttt gggacacta tag
18563 <210> 44 <211> 18563 <212> DNA <213> Artificial Sequence <220> <	
223> sequence for pBACSP6/JVFLx/XhoI <400> 44 agaagtttat ctgtgtgaac ttcttggctt	
agtatcggtt agaagaatcg agagattagt	60 gcagtttaaa cagttttta gaacggaaaga
taaccatgac taaaaaacca ggagggcccg	120 gtaaaaaccg ggctatcaat atgctgaaac
gcggcctacc ccgcgtattc ccactagtg	180 gagtgaagag ggttagtaatg agcttgg
acggcagagg accagtacgt ttgcgtgcgg	240 ctcttatcac gttcttcaag tttacagcat
tagcccccac caaggcgctt ttaggccat	300 ggaaagcagt ggaaaagagt gtggcaatga

aacatttac tagttcaaa cgagaacttg
gcagaaagca aaacaaaaga ggaggaaatg
cagttgtcat agcttgttaa ggagccatga
tgaccattaa caacacggac attgcagacg
acagatgctg ggtccggca atcgatgtcg
aatgtcctaa gcttaccatg ggcaatgatc
aagaagtcta cgtccatat ggacgggtgca
ggtccgtgtc ggtccaaaca catggggaga
tggattcaac gaaagccaca cgatatactca
ctggctatgc ttccctggcg gcggtaacttg
gcgtgggtt taccatcctc ctgctgttg
gaatggcaa ccgtgacttc atagaaggag
tagaaggaga tagctgcttg acaatcatgg
tgattaacat cgaagccagc caacttgctg
tcactgacat ctcgacggtg gctcggtgcc
gagctgatag tagctatgtg tgcaaacaag
gtggactttt cgggaaggga agcattgaca
cgattggag aacaatccag ccagaaaaca
gaaccaccac ctcggaaaac catggaaatt
caaagttac agtaaacaccc aatgctcctt
aagtacact ggactgtgaa ccaaggagtg
360 gaacactcat tgacgccgtg aacaagcggg
420 aaggctcaat catgtggctc gcgagttgg
480 agttgtcaaa ttccaaggg aagctttga
540 tcatcgat tcctaccta aaaggagaga
600 gctacatgtg tgaggacact atcacgtacg
660 cagaggatgt ggattgctgg tgtgacaacc
720 cgcggaccag gcattccaag cgaagcagga
780 gttcactagt gaataaaaaa gaggcttggc
840 tgaaaactga gaactggatc ataaggaatc
900 gctggatgt tggcagtaac aatggtaac
960 tcgctccggc ttacagttt aattgtctgg
1020 ccagtggagc cacttgggtg gacttagtgc
1080 caaacgacaa accaacattg gacgtccgca
1140 aggtcagaag ctactgctat catgcttcag
1200 ccacgactgg agaagcccac aacgagaagc
1260 gttcactga tcgtgggtgg ggcaacggat
1320 catgtgcaaa atttcctgc accagtaagg
1380 tcaaatacga agttggcatt ttgtgcatt
1440 attcagcgca agtagggcgc tcccaggcgg
1500 cgataaccct caaacttggt gactacggag
1560 gactgaacac tgaagcgttt tacgtcatga

ccgtgggtc aaagtcat t ctggccata
ggacgtcccc ttcgagcaca gcgtggagaa
cgcacgccac aaaacagtcc gtttgtgctc
cgctggcagg agccatcgta gtggagtact
tgaatgttag gctgaaaatg gacaaactgg
cagaaaaatt ctcgttcgca aaaaatccgg
aactctccta ttctggagt gatggcccct
tcaatgacat gaccccggtt gggcggctgg
tgcccaactc aaaggtgctg gtcgagatgg
ttggaagggg agacaagcag atcaaccacc
aggcttttc aacaactttg aaggagctc
gggactttgg ctctatttga ggggtcttca
tttgtggcgc ttctagaaca ctctttgggg
tgccctact actctggatg ggcataacg
tggccacagg aggtgtgctc gtgttcttag
ccattgacat cgcaagaaaa gagatgagat
tggaaaggctg ggtggatagg tataaatatt
tctgtccacaa agcgacaaag gaaggcgtgt
accaaatttg ggaagccgtg cgggacgaat
acctcagtgt ggttgtgaac aagcccggttgg
ccatgacgca agagaagttt gaaatggct
1620 ggaaatggtt tcatgaccc tcctccct
1680 acagagaact cctcatggaa tttgaagagg
1740 ttgggtcaca ggaaggaggc ctccatcagg
1800 caagctcagt gaagtttaaca tcagggcacc
1860 ctctgaaagg cacaacctat ggcattgtgt
1920 cggacactgg ccacggaaaca gttgtcattt
1980 gcaaaattcc gattgtctcc gttgcgagcc
2040 tgacagtgaa ccccttcgtc gcgacttcca
2100 aaccccccattt cggagactcc tacatcgtag
2160 attggcataa agctggaagc acgctggca
2220 aaagactggc agcgttgggc gacacagcct
2280 actccatagg aaaggccgtt caccaagtgt
2340 gaatgtctt gatcacacaa gggtaatgg
2400 cacgagatcg atcaattgct ttggccttct
2460 cgaccaatgt gcatgctgac actggatgt
2520 gcggaaagtgg catcttcgtc cacaacgacg
2580 tgccagaaac gcccagatcc ctagcgaaga
2640 gcggagatcg atctgtcact agactggagc
2700 tgaacgtcct gctcaaagag aatgcagtgg
2760 ggagatatcg ctcagccccaa aacgcctgt
2820 ggaaagcatg gggaaaaagc attcttttg

cccggaatt ggcttaactcc acatttgtg
atgagcacag agcctggaac agcatgcaaa
cccgtgtgtg gctgaagatt agagaggaaa
gcacagctgt caaaggacat gtggcagttc
gctacaacga cacatggaaa cttgagaggg
ggccagagac acacacttt tggggagatg
ataccatagc cggaccaaaa agcaaggcaca
agggaccttg ggacgaaaac ggcatagtct
tcaccatcac agaggattgt ggcaagagag
gaaagtgtat tactgactgg tgctgtcgca
cagaaaaatgg ctgctggtac ggaatggaaa
tcgtcagatc acaggttgtat gcttcaatg
ttctggtgat gtttctggcc acccaggagg
ccattcctgc ggtttgggg gccctgcttg
atttggcgag gtatgtggtg cttagtcgt
acgtcctgca ctttgcttg attgccgtt
acatgcttag cacgagatgg acgaaccaag
tcttcaatt ggcctcagta gatctgcaaa
ctatagcatg gatgattgtt cgagcgatca
cagtcttagc gtttctaact ccggaaatga
tccttctcgat catagggatt tgctccctgc
2880 tagatggacc tgagacaaag gaatgtcctg
2940 tcgaagactt cggcttgggt atcacatcaa
3000 gcactgacga gtgtgatgga gcgatcatag
3060 atagtgactt gtcgtactgg attgagagtc
3120 cagtcttgg agaggtcaaa tcttgcactt
3180 gtgttgagga aagtgaactc atcatccgc
3240 atcggagggaa agggtacaaa acacaaaacc
3300 tggactttga ttattgcccc gggacaaaag
3360 gcccttcggt cagaaccact actgacagtg
3420 gttgctccct tccgcccccta cgattccgg
3480 tcagacctgt taggcatgat gaaacaacac
3540 gtgaaatggt tgacccttt cagctggcc
3600 tccttcgcaa gaggtggacg gccagattga
3660 tgctgatgct tggggcatac acttacactg
3720 ctgcttgcgc agaggccaat aatggaggag
3780 ttaagatcca accagtttt cttagtcatg
3840 aaaacgtggt cctggccta ggggctgcct
3900 tcggagttca cggaaatcctg aatgccgccc
3960 cttccccac aacccctcc gtcaccatgc
4020 gggctctata cctagacact tacagaatca
4080 tgcaagagag gaaaaagacc atggcaaaaa

agaaaaggagc tgtactcttgcggcttagcgcc
ccatagctgc tggactaatgtctgcaacc
agtttctgtc ggcagtcgga ttgatgtttgt
ttgaatccat gtcaatacccttcatgctgg
cagaaaaagc aacagatatgtggctcgaac
ctgcaatcac aggaagcagt cggaggctgg
acttgattga tgatcccgccgttccatgg
gcttagccgc cctcacgcct tggccattgt
taaaaacaac aaaaagaggg ggcgtgtttt
aaggagacac cactacagga gtctaccgaa
aggctggcgt cggagtcgt tacgagaatg
ggcagccat tatgagtggaa gaaggaaaat
accgcatagc ttacggaggc ccatggagat
tgcaagtgtat cgtggtagaa ccggggaaagg
tgtttcggac ccccttcgggg gaggttgggg
ccggctcacc cattctggat tccaatggag
agcttggcga tggctcatac gtcagcgcca
tcccagaagc ttacactcca aacatgttaa
accctggttc agggaaaacc aggaaaattc
agcgccctaag aacagctgttggcaccga
cttgagagg gctccagta cgataccaaat
4140 tcacatccac tggatggttc tcgcccacca
4200 caaacaagaa gagagggtgg ccagctactg
4260 ccatcgtagg tggttggcc gagttggata
4320 caggtcttat ggcagtgtcc tacgttagtgt
4380 gggccgcccga catcagctgg gagatggatg
4440 atgtgaaact ggatgatgac ggagatttc
4500 aagtttgggt cttgcgcattgc tcttgcatt
4560 ttcccgccgc tttcggttac tggctcactt
4620 gggacacgccc atccccgaaa ccttgcttaa
4680 tcatggcttag agggattctt ggcacctacc
4740 tttccacac actatggcac acaactagag
4800 tgacgccata ctggggtagc gtgaaagaag
4860 ttgatcgaaa atggaatgga acagatgacg
4920 ctgcggtaaa catccagaca aaaccaggag
4980 ctgttagcct ggattaccccg cgaggaacat
5040 acatcatagg cctatacggc aatggagttg
5100 tcgtgcaggg tgaccgtcag gaggaaccag
5160 gaaagagaca gatgactgttgc
5220 tgccacaaat aattaaggat gcaatccagc
5280 cgcggtggt agcagcagaa atggcagaag
5340 cttcagcagt gcagagagag caccaaggaa

atgaaatagt ggatgtgatg tgccacgcc
gagtgcctaa ctacaatctg tttgtcatgg
tagccgcacg aggatacatac gctaccaagg
tgacagcgac cccgcctgga accacggatc
attacaaga ttagatacc aacaggcat
atgcggtaa aaccgtgtgg tttgtggcga
gcctccaaag agcggaaaaa aaggtcatcc
acccaaaatg taagaatgga gactgggatt
gggctaactt cggtgcgagc agggtcatcg
tagaagaggg agaaggcaga gtcattctcg
cagctcaacg gaggggcaga gttagcagaa
atggagggc taccagtcaa gatgacagta
tgttagacaa catacacatg cccaatggc
aaaaggctt cacaatggat ggcgaatacc
tagagctgct taggacggct gacccatcg
gcattcagta caccgacaga aagtgggtt
aggacaacac cgaggttagag atagtcaccc
gatggcttga tgcaagagta tacgcagatc
cagcagaaaa gagatcgccc gtttagttca
tcatggaaa gacgcggaa gctttagaca
gtggaaaggc acaccgaatg gctctcgaag
5400 ctctgaccca cagattgatg tcaccgaaca
5460 atgaagctca tttcaccgac ccagccagca
5520 tgaaattagg agaggcagca gccatctta
5580 ctttcccga ctcaaattgc ccaatccatg
5640 ggagcagtgg atacgaatgg atcacagaat
5700 gcgtaaaaat gggaaatgag attgcaatgt
5760 aactcaaccg caagtccat gacacagaat
5820 ttgtcattac caccgacatc tctgaaatgg
5880 actgcagaaa gagcgtgaaa cccaccatct
5940 gaaaccatc tccataacc agtgctagcg
6000 accccaacca agttggagat gaataccatt
6060 acctagccca ttggacagag gcaaagatca
6120 tggtgccca gctctatgga ccagagaggg
6180 gtctcagggg tgaagaaaaa aaaaacttct
6240 tgtggctggc ctataaggtg gcgtccatg
6300 ttgatggcc ggcacgaat gccatactgg
6360 ggatgggtga gagaagatc ctcaagccga
6420 accaaggccct caagtggttc aaagactttg
6480 tagagtgct cggtcgcatg cctgagcatt
6540 ccatgtactt ggtcgcaacg gctgagaaaa
6600 agttgcccga tgcactggaa accatcacac

ttattgttgc catcaactgta atgacaggag
gtataggaa gatgggtctt ggagctctag
cgccagaggt tcctggaacc aaaatagcag
tggttctcat cccagaaccc gaaaaacaga
ttctcatctg cgtcttgacc gtgggtggag
aaaaaaccaa agcagatctc aagagcatgt
ctggattgcc aagcatggca ctggacctgc
ggagcacagt tgtgctaacc cctcttctga
catcgctagc ctcaattaac tcacaagctg
cttcaccga tctagacctg accgttggcc
ccctcacaac gttttgaca gccatggtc
ctggatggca agcagaagca ctcaaggctg
agaatgccgt tggtagcggaa atggtcgcca
ctctgatgca aaagaaaagtc ggacaggtgc
tcgtcaaccc taatgtcacc actgtgagag
tcaccttgtg ggataatgga gccagtgccg
gccatgtcat gcgaggttagc tacctggctg
acgctgacaa gccctccctg aaaaggggaa
ggaaggaaaa actaaatgcc atgagcagag
taatcgaggt ggaccgcact gaagcacgca
gacatccggc ttgcgcgaggc tcagcaaaac
6660 gattcttcct actaatgatg cagcgaaagg
6720 tgctcacgct agctacccctc ttccctgtggg
6780 ggaccctgct gatcgccctg ctgctgatgg
6840 ggtcacagac agacaaccaa ctgcggtgt
6900 tggtagcggc acacgagtac gggatgctag
6960 ttggcggaaa gacacaggca tcaggactga
7020 gtccagccac agcctggca ctgtatgggg
7080 agcacctgat cacgtcgaa tatgtcacca
7140 gctcattatt cgtcttgcca cgaggcgtgc
7200 tcgtcttcct tggctgctgg ggtcaatca
7260 tggcgacact tcactatggg tacatgctcc
7320 cccagagaag gacggcggct ggaataatga
7380 ctgatgtgcc tgaactggaa aggactactc
7440 tcctcatagg ggtgagcgtg gcagcgttc
7500 aagcaggggt gttgggtgacg gcggctacgc
7560 ttggaaattc caccacagcc acgggactct
7620 gaggctctat tgcttggact cttatcaaga
7680 ggcctgggg caggacgcta ggggagcagt
7740 aagagtttt taaataccgg agagaggcca
7800 gggctagacg taaaataac atagtgggag
7860 tccgttggct cgtggagaaa ggattcgtct

cgccaatagg aaaagtattt gatcttaggt
caaccctgaa gaaggtccag gaagtcagag
agccgatgct catgcagagc tacggctgga
tggttcacaa accttcagag cctagtgaca
caagtccaga agtggaaagaa caacgcacac
tgcatcgagg acccagagag ttctgcataa
tagaaaaaaat ggaagttctg cagcgccgct
cccgaaactc caatcacgag atgtattggg
ctgtgaacat gaccagccag gtactactgg
caaagtatga ggaagatgtc aaccttaggtt
ttcatagcaa tcaggagaaa atcaagaaga
caacgtggca caaagaccct gaacacccat
aggtgaaggc tactggctca gccagctctc
aaccttggga cgccattgcc aacgtcacca
gacagcaaag agtttcaag gagaaagtgt
tcaaggaagt gctcaacgag accaccaact
gaccccgctt gtgcaccaag gaagaattta
gagcagtgtt tgctgaacag aatcaatgga
ggtttggga gatggtaat gaagagaggg
gtatctacaa catgatggga aaaagagaga
ggagcagggc cattgggttc atgtggcttg
7920 gtgggcgtgg aggatggagc tactacgcag
7980 gatacacgaa aggtggggcg ggacatgaag
8040 acctggtctc cttgaagagt ggagtggatg
8100 ccctgttctg tgacataggg gaatccccc
8160 tacgcgtcct agagatgaca tccgatttgt
8220 aagttctctg cccttacatg cccaaggtca
8280 tcggaggtgg gctagtaacgt ctccccctgt
8340 ttagtggagc cgctggcaat gtgggcacg
8400 ggcgaatgga tcgcacagtg tggagagggc
8460 gcggacaacaag agccgtggaa aagggagaag
8520 gaatccagaa gcttaaagaa gaattcgcca
8580 accgcacttg gacataaccac ggaagctatg
8640 tcgtcaacgg agtggtaag ctcatgagta
8700 ccatggccat gactgacacc accccttttgc
8760 acacgaaagc tcctgagcca ccagctggag
8820 ggctgtgggc ccacttgtca cggaaaaaaa
8880 taaagaaagt caatagcaac gcggcttttg
8940 gcacggcgcg tgaggctgtg gacgacccgc
9000 aaaaccatct gcgaggagag tgtcacacat
9060 agaagcctgg agagtttggaa aaagctaaag
9120 gagcacggta tctttagttt gaagctttgg

ggttcctgaa tgaagaccac tggctgagcc
caggcgtcca aaagtggga tacatcctcc
tgtacgctga tgacaccgcc gggtgggaca
aagctaagg gctggagctc ctagatggtg
aactgactta caggcacaaa gtggtaagg
tgatggacgt gatatcaaga gaagacaaa
tcaacactt cacgaacatc gctgtccagc
ttgggccaca acacttgaa cagctgccta
tcttgagaa tggagaggag agagtgacca
tcaagccgct ggacgacaga ttgcacgg
ttagaaaaga catccaggaa tggaaaggctt
ccttctgctc taaccactt caggagattg
cgtcgaggagg acaggatgag ctgataggca
atgtgaagga cacagttgc ctggcaaaag
tccatcgtag ggacctgcgt ctcatggcaa
gggtgcccac aggaggaca tcctggtaa
aagacatgct gcaggctgg aacagagtct
agactccgt cacaagctgg acagacgttc
gtggcagcct catcgaaacg cgttccagag
taaaccagg tagagctgtc attggaaag
ggagatacga agacgtttg atccaggaag
9180 gagagaattc aggaggtgga gtagaaggct
9240 gtgacatagc aggaaagcaa ggagggaaaa
9300 ctagaattac tagaactgat ttagaaaatg
9360 aacaccgcat gctcgcccg gccataattg
9420 tcatgagacc tgcagcagaa ggaaagacgg
9480 gggggagtgg acaggtggtc acttatgctc
9540 tcgttaggct gatggaggct gagggggtca
9600 ggaaaaacaa gatagctgtc aggacttggc
9660 ggatggcgat cagcggagac gactgtgtcg
9720 ccctccattt cctcaacgca atgtcaaagg
9780 cgcacggctg gcacgattgg cagcaagttc
9840 ttagtggaaaga cggaaggagt atagttgtcc
9900 gggctcgcat ctctccagga gctggatgga
9960 catatgcaca gatgtggcta ctcctatact
10020 atgcgatttg ctacgcagtg ccagttggatt
10080 tacactcgaa aggagagtgg atgaccacgg
10140 ggattgaaga aaatgaatgg atgatggata
10200 cgtatgtggg aaagcgtgag gacatctggt
10260 caacctggc tgagaacatc tatgcggcga
10320 aaaattatgt tgactacatg acctcactca
10380 acagggtcat ctgtgtgac ttaaggtaga

aatgtaaata atgtgaatga gaaaatgcat
accggatact gggtagacgg tgctgcctgc
atctgacaac agaaagttag aaagccctca
tggaaaggta aagaccaacg tcaggccacg
ctgcgcagcc ccaggaggac tgggttacca
cgtctaggat gcaatagacg aggtgttaagg
aacaacatgc ggccccaaagcc ccctcgaaac
aggagacccc gcatttgcatt caaacagcat
tctgctctat ctcaacatca gctactaggc
aggaagaaca caggatctcg agcggccgcg
agagggattt gttccctagg cctaattatt
cctttctaa ttctcgata ctatgttag
caattctcat gtttgacagc ttatcatcgat
tattcaggcg tagcaaccag gcgttaagg
cccgccctgc cactcatcgc agtactgttgc
gccatcacaa acggcatgat gaacctgaat
cgatataatat ttgcccattgg tgaaaacggg
taaatcaaaa ctggtgaaac tcacccaggg
aaaccctta gggaaatagg ccaggttttc
gttagaaac tgccgaaat cgtcgtggta
ttgctcatgg aaaacggtgt aacaagggtg
10440 gtatatggag tcaggccagc aaaagctgcc
10500 gtctcagtcc caggaggact gggtaacaa
10560 gaaccgtctc ggaagtaggt ccctgctcac
10620 aatttgtgcc actccgctgg ggagtgcggc
10680 aagccgttga ggccccacg gcccaagcct
10740 actagaggtt agaggagacc ccgtggaaac
10800 tgttagaggag gtggaaggac tagaggttag
10860 attgacacctt gggatagac tggagatct
10920 acagagcgcc gaagtatgta gctgggggt
10980 gaccgactag cctctttcg gccttcgctg
11040 atttttaattt gcccaatacg tatacgagt
11100 tcgtattatc tagccgcccggccgtcgac
11160 atttctgcca ttcatccgct tattatca
11220 gcaccaataa ctgccttaaa aaaattacgc
11280 taattcatta agcattctgc cgacatggaa
11340 cgccagcggc atcagcacct tgcgccttg
11400 ggcgaagaag ttgtccatat tggccacgtt
11460 attggctgag acgaaaaaca tattctcaat
11520 accgtAACAC gcccacatctt gccaatata
11580 ttcaactccag agcgatgaaa acgtttcagt
11640 aacactatcc catatcacca gctcaccgtc

tttcattgcc atacggaatt cggatgagc
ggccggataa aacttgtgct tattttctt
ctgaacggtc tggtatagg tacattgagc
acgatgccat tggatatat caacggtggt
ttccttagct cctgaaaatc tcgataactc
attatggtga aagttgaaac ctcttacgtg
ggcccagggc ttcccggtat caacaggac
ttccgtcaca ggtatttatt cgcgataaagc
ggacagagaa agcgccgatc tggaaagtga
aggcggttgc cgccgctgct gctgacggtg
cggtccgcca ttcctatgct atgcacatgc
aaagcctgat gggacataag tccatcaggta
tggatgtggc tgccggcac cgggtgcagt
tgctgaaaca attatcctga gaataaatgc
gtggatatgc tgttttgtc tgttaaacag
acgaaacagt cggaaaatc tcccattatc
ctgttagcg tttataggaa gtatgttct
gatttgaata tgccttcagg aacaatagaa
cgattatgt cagcaatgga cagaacaacc
cctttacag ccagtagtgc tcgccccagt
gaggaagcac cagggAACAG cacttatata
11700 attcatcagg cggcaagaa tgtgaataaa
11760 tacggcttt aaaaaggccg taatatccag
11820 aactgactga aatgcctcaa aatgttctt
11880 atatccagtg attttttctt ccatttttagc
11940 aaaaaatacg cccggtagtg atcttatttc
12000 ccgatcaacg tctcatttc gccaaaagtt
12060 accaggattt atttattctg cgaagtgtac
12120 tcatggagcg gcgttaaccgt cgcacaggaa
12180 cggacagaac ggtcaggacc tggattgggg
12240 tgacgttctc tggccggc acaccacata
12300 tgtatgccgg tataccgctg aaagttctgc
12360 caacggaaatg ctacacgaag gttttgcgc
12420 ttgcgtatgcc ggagtctgat gcgggtgcga
12480 ctggccctt atatggaaat gtggaactga
12540 agaagctggc tgttatccac tgagaagcga
12600 gtagagatcc gcattattaa tctcaggagc
12660 gtcatgtatgc ctgcaagccg taacgaaaac
12720 atcttcgtgc ggtgttacgt tgaagtggag
12780 taatgaacac agaaccatga tgtggctgt
12840 cgagcgacag ggcgaagccc tcgagtgagc
12900 ttctgcttac acacgatgcc tgaaaaaact

tcccttgggg ttatccactt atccacgggg
ttagatctc ttttagag cgccctgttag
gttgtgacaa attgccctt cagtgtgaca
acaaattgcc ctaaccctg tgacaaattg
tatccctgct tattgactct ttttattta
acatggatct gtcatggcgg aaacagcggt
gcgaatcgic cagtcaaacg acctcaactga
acgtatgctg tatctgttcg ttgaccagat
tgacggtatac tgcgagatcc atgttgctaa
ggaagccagt aaggatatac ggcaggcatt
ttatcgccct gaagaggatg ccggcgatga
caaacgtgcg cacagtccat ccagagggct
tcccttctt atcgggttac agaaccgggt
aatcaccaat ccgtatgcca tgcgttata
tggctcaggc atcgctctc taaaaatcga
aagttaccag cgtatgcctg acttccggcg
caacagcaga actccaatgc gcctctcata
tcatatcgta tttccttcc gcgatatcac
tctgtcacag atttgggggt ggttcgtcac
cacagtttg ctgttcctt cagcctgcat
ttaaggaag ccaaattga gggcagttg
12960 atattttat aattatttt tttatagttt
13020 gcctttatcc atgctggttc tagagaaggt
13080 aatcaccctc aaatgacagt cctgtctgt
13140 ccctcagaag aagctgtttt ttcacaaagt
13200 gtgtgacaat ctaaaaactt gtcacacttc
13260 tatcaatcac aagaaacgta aaaatagccc
13320 ggcggcatat agtctctccc gggatcaaaa
13380 cagaaaatct gatggcaccc tacaggaaca
13440 atatgctgaa atattcggat tgacctctgc
13500 gaagagtttgcggggagg aagtggttt
13560 aaaaggctat gaatcttttcttggtttat
13620 ttacagtgtatcatatcaacc cataatctcat
13680 tacgcagttt cggcttagtg aaacaaaaga
13740 cgaatccctg tgtcagttatc gtaagccgga
13800 ctggatcata gagcgttacc agctgcctca
13860 ccgccttcctg caggtctgtt ttaatgagat
13920 cattgagaaa aagaaaggcc gccagacgac
13980 ttccatgacg acaggatagt ctgagggtta
14040 atttggttctg acctactgag ggtaatttgt
14100 ggattttctc atacttttg aactgtaatt
14160 tcacagttga ttcccttctc ttcccttcg

tcatgtgacc tgatatcgaa ggttagttcg
ttattactct gaattggcta tccgcgtgt
atatttcttc ttgcgttag cgtaagagct
cgccagttcg ctgcgtatgc tcggttacac
actgaggat gtgctttct tatctcctt
gcggttttt gatgactttg cgattttgtt
aaaaaaaaacgc aaagcaatga ttaaaggatg
cagtgcataa acgctggtca tgaaatgacg
gacagccccgg aagcgaggaa aataaccgg
gttgggttt cttctcaggc tatcagagat
gatatggaaa ttcgaggacg gggttagcaa
catatgcgtg atgtgtttgg tacgcgttg
atcgggttg ctgccataa aggtggcgtt
caggatctgg ctctgaaggg gctacgttt
acagcctcaa tgtatcacgg atgggtacca
ctgcctttct atcttgggaa aaaggacgt
ccggggcttg acattattcc ttccgtctg
ggcaaatttg atgaaggtaa actgcccacc
gaaactgttg ctcatgacta tgatgtcata
ggcacgatta atgtcgatg tgctgctgt
tttactaca cctccgcact gcagttttc
14220 tcatcatgaa tgagggttga ttatcacagt
14280 tacctctacc tggagttttt cccacgggtgg
14340 atctgacaga acagttttc tttgcttcct
14400 ggctgcggcg agcgttagtg ataataagtg
14460 tgttagtggc ctcttatttt aaacaacttt
14520 gttgcttgc agtaaattgc aagatttaat
14580 ttcagaatga aactcatgga aacacttaac
14640 aaggctatcg ccattgcaca gtttaatgat
14700 cgctggagaa taggtgaagc agcggattta
14760 gccgagaaag cagggcgact accgcacccgg
14820 cgtgtggtt atacaattga acaaatttaat
14880 cgacgtgctg aagacgtatt tccaccgggt
14940 tacaaaacct cagtttgttgc tcatcttgc
15000 ttgcgttgg aaggtaacga cccccaggaa
15060 gatcttcata ttcatgcaga agacactctc
15120 gtcacttatg caataaagcc cacttgctgg
15180 gctctgcacc gtattgaaac tgagttatg
15240 gatccacacc tgatgctccg actggccatt
15300 gttattgaca gcgcgcctaa cctgggtatc
15360 gtgctgatttgc ttccacgccc tgctgagttg
15420 gatatgcctc gtgatctgct caagaacgtt

gatcttaaag ggttcgagcc tcatgtacgt
ggctctcagt ccccgatggat ggaggagcaa
aaaaatgttg tacgtgaaac ggatgaagtt
tttgcacagg ccattgatca acgctttca
tggAACCTG tctgcaatga aattttcgat
taatgaagcg tgcgcctgtt attccaaaac
cttcgttatac gacaccagct gccccgatgg
tggctcgccg taatgccatt actttgcctg
aagtgcctcg gggtgatagt gttgagaaga
accaggagct gcttactgag gacgcactgg
gtcaacagac accggcggtc ggtcgaagag
gtcgccgtcg taaagctgct gcacttaccg
tggatgatga gcagatggct gcattatcca
cttatgaacg tggtcagcgt tatgcaagcc
ctgcgctggc tcatgcggaa aatattcac
ccaaattgcc taaatcagtt gttgcttt
caggtgatgc acitcaaaaaa gccttacag
ctaaccctca tgagcagaaa aaagctgggg
tttaacttc tgtgcttaaa acgtcatctg
agtttgcgtcc tggagcgaca gtattgtata
ggtctcggt tccaaactgag tgtatagaga
15480 attttgctta ccaaatacag caatagtaat
15540 attcgggatg cctggggaaag catggttcta
15600 ggttaagggtc agatccggat gagaactgtt
15660 actggtgccct ggagaaatgc tctttctatt
15720 cgtctgatta aaccacgctg ggagattaga
15780 atacgctcaa tactcaaccg gttgaagata
15840 tggattcggtt aattgcgcgc gtaggagtaa
15900 tatgtggtgcg ggatgtgaag tttactcttgc
15960 cctctcggtt atggtcaggt aatgaacgtg
16020 atgatctcat cccttcttt ctactgactg
16080 tatctggtgtt catagaaattt gccgatggga
16140 aaagtgatta tcgtgttctg gttggcgagc
16200 gattggtaa cgattatcgc ccaacaagtg
16260 gattgcagaa tgaatttgct ggaaatattt
16320 gtaagattat taccgcgtt atcaacacccg
16380 ttctcaccc cggtaacta tctgcccgggt
16440 ataaagagga attacttaag cagcaggcat
16500 tcatatttgcg agctgaagaa gttatcactc
16560 catcaagaac tagtttaagc tcacgacatc
16620 agggcgataa aatggtgctt aacctggaca
16680 aaattgaggc cattcttaag gaacttgaaa

agccagcacc ctgatgcgac cacgttttag
tttggtagac ggcaggaaagc ataactggcc
ttgtatcgta ggtctgataa tcagactgg
ttattagtct gggaccacgg tcccactcgt
cggtcccaact cgtatcgta gtcgtataat
tcgggtctgat tattagtctg ggaccatgg
ctgggaccac ggtcccactc gtatcgta
ctcgatcgt cggtctgatt attagtctgg
attattagtc tgggaccacg atccactcg
acggtcccac ttgtattgtc gatcagacta
tgtcaaggc aagtattgac atgtcgctgt
ggttgtatgc ctgctgtgga ttgctgtgt
gttatgtgga caaaataacct ggttacccag
cgatgcaagt gtgtcgctgt cgacgagctc
cagtgtcgct gatttgatt gtctgaagtt
aatacgatac ctgcgtcata attgattatt
gtgatatgt a gatgataatc attatcactt
acggggcggc gacctcgccg gtttcgcta
ccgttcttct tcgtcataac ttaatgttt
acgacagggtg ctgaaagcga gcttttggc
gtgaaatgaa caatgaaatg ccgagctcat
16740 tctacgttta tctgtcttta cttaatgtcc
16800 tgaatattct ctctggcccc actgttccac
16860 accacggtcc cactcgatc gtcggctgtga
16920 atcgtcggtc tgattattag tctgggacca
16980 cagactggga ccacggtccc actcgtatcg
17040 cccactcgta tcgtcggtct gattattag
17100 tctgattatt agtctggaac cacggtccca
17160 gaccacggtc ccactcgat cgtcggctcg
17220 tgtgtcggt ctgattatcg gtctggacc
17280 tcagcgtgag actacgattc catcaatgcc
17340 aacctgtaga acggagtaac ctcggtgtgc
17400 gtccctgttta tccacaacat ttgcgcacg
17460 gccgtgccgg cacgttaacc gggctgcattc
17520 gcgagctcggt acatgagggtt gccccgtatt
17580 gttttacgt taagtgtatg cagatcaatt
17640 tgacgtggtt tgatggccctc cacgcacgtt
17700 tacgggtcct ttccggtgat ccgacaggtt
17760 tttatgaaaaa tttccgggtt taaggcgttt
17820 tattaaaaat accctctgaa aagaaaaggaa
17880 ctctgtcggtt tcctttctct gttttgtcc
17940 cgctaataac ttcgtatagc atacattata

cgaaggttata ttcgatgcgg cgctgaggta
accaggcctg aatcgccccca tcattccagcc
cttgggtgtt ggtggaccag ttgggtgtt
cggtgtcggg aagatgcgtg atctgatcct
aaagccacgt gtctcaaaat ctctgatgtt
gaacaataaa actgtctgct tacataaaca
aacggaaac gtcttgctcg acgatgataa
atgctaaaac gcggcataacc ccgcgtattc
tagaggcttt ccctagtcctt actatagcgt
aattaataca taaccttatg tatcatacac
18563 <210> 45 <211> 18565 <212> DNA <213> Artificial Sequence <220> <
223> sequence for pBACSP6/JVFLx/XbaI <400> 45 agaagtttat ctgtgtgaac ttcttggctt
agtatcggtt agaagaatcg agagatttg
taaccatgac taaaaaaacca ggagggcccg
gcggcctacc ccgcgtattc ccactagtg
acggcagagg accagtacgt ttcgtgtgg
tagccccgac caaggcgctt tttaggccat
aacatcttac tagttcaaa cgagaacttg
gcagaaaagca aaacaaaaga ggaggaaatg
cagttgtcat agttgtgtt ggagccatga
tgaccattaa caacacggac attgcagacg
18000 tgccctgtga agaagggtttt gctgactcat
18060 agaaaagttag ggagccacgg ttgtatgagag
18120 tgaacttttgc ctttgcacg gaacggctcg
18180 tcaactcagc aaaagttcga tttattcaac
18240 acattgcaca agataaaaat atatcatcat
18300 gtaatacaag ggggtttatg agccatattc
18360 gctgtcaaacc atgagaattt ggtcgtcaat
18420 ccactagtttta attaacctgc agggggctgt
18480 atggacatat tgcgtttaga acgcggctac
18540 atacgattta ggggacacta tag
60 gcagtttaaa cagttttta gaacggaaga
120 gtaaaaaccg ggctatcaat atgctgaaac
180 gagtttttttttgg
240 ctcttacatc gttttcaag ttacagcat
300 ggaaaggcgtt ggaaaagagt gtggcaatga
360 gaacactcat tgacgccgtg aacaagcggg
420 aaggctcaat catgtggctc gcgagtttgg
480 agttgtcaaa ttccaaaggaa aagcttttga
540 tcattcgttat tccttaccaaa aaaggagaga

acagatgctg ggtccggca atcgatgtcg
aatgtcctaa gcttaccatg ggcaatgatc
aagaagtcta cgtccaaatggacgggtca
ggtccgtgtc ggtccaaaca catggggaga
tggattcaac gaaagccaca cgatatctca
ctggctatgc tttcctggcg gcggtaacttg
gcgtggtgtt taccatcctc ctgctgttgg
gaatggcaa ccgtgacttc atagaaggag
tagaaggaga tagctgcttg acaatcatgg
tgattaacat cgaagccagc caacttgctg
tcactgacat ctcgacggtg gctcggtgcc
gagctgatag tagctatgtg tgcaaacaag
gtggactttt cggaaaggga agcattgaca
cgattggag aacaatccag ccagaaaaca
gaaccaccac ctcggaaaac catggaaatt
caaagttac agtaacacccc aatgctcctt
aagtacacact ggactgtgaa ccaaggagtg
ccgtgggtc aaagtcattt ctggtccata
ggacgtcccc ttcgagcaca gcgtggagaa
cgcacgcccac aaaacagtcc gttgttgctc
cgctggcagg agccatcggtg gtggagtact

600 gctacatgtg tgaggacact atcacgtacg
660 cagaggatgt ggattgctgg tgtgacaacc
720 cgcggaccag gcattccaag cgaagcagga
780 gttcactagt gaataaaaaa gaggcttggc
840 tgaaaactga gaactggatc ataaggaatc
900 gctggatgct tggcagtaac aatggtaac
960 tcgctccggc ttacagtttt aattgtctgg
1020 ccagtggagc cacttgggtg gacttagtgc
1080 caaacgacaa accaacattg gacgtccgca
1140 aggtcagaag ctactgctat catgcttcag
1200 ccacgactgg agaagcccac aacgagaagc
1260 gtttcaactga tcgtgggtgg ggcaacggat
1320 catgtgcaaa atttcctgc accagtaagg
1380 tcaaatacga agtggcatt tttgtgcatt
1440 attcagcgca agtagggcgc tcccaggcgg
1500 cgataaccct caaacttggt gactacggag
1560 gactgaacac tgaagcgtt tacgtcatga
1620 ggaaatggtt tcatgacccct gctctccct
1680 acagagaact cctcatggaa tttgaagagg
1740 ttgggtcaca ggaaggaggc ctccatcagg
1800 caagctcagt gaagttaca tcaggccacc

tgaaatgtag gctgaaaatg gacaaactgg
cagaaaaatt ctcgttcgca aaaaatccgg
aactctccta ttctggagt gatggcccct
tcaatgacat gaccccggtt gggcggctgg
gtgccaactc aaagggtgctg gtcgagatgg
ttggaagggg agacaagcag atcaaccacc
aggcttttc aacaactttg aagggagctc
gggactttgg ctctattgga ggggtcttca
tttgtggcgc tttcagaaca ctctttgggg
tgccctact actctggatg ggcataacg
tgcccacagg aggtgtgctc gtgttcttag
ccattgacat cgcaagaaaa gagatgagat
tggaaaggctg ggtggatagg tataaatatt
tcgtccacaa agcgcacaag gaaggcgtgt
accaaatgtg ggaagccgtg cgggacgaat
acctcagtgt ggttgtgaac aagcccggtt
ccatgacgca agagaagttt gaaatgggt
ccccggaaatt ggctaactcc acatitgttgc
atgagcacag agcctggAAC agcatgcaaa
cccggtgtgt gctgaagatt agagaggaaa
gcacagctgt caaaggacat gtggcagttc
1860 ctctgaaagg cacaacctat ggcataatgg
1920 cggacactgg ccacggaaaca gttgtcattt
1980 gcaaaattcc gattgtctcc gttgcgagcc
2040 tgacagtgaa ccccttcgtc gcgacttcca
2100 aaccccccattt cggagactcc tacatcgtag
2160 attggcataa agctggaagc acgctggca
2220 aaagactggc agcgttgggc gacacagcct
2280 actccatagg aaaggccgtt caccaagtgt
2340 gaatgtcttgc gatcacacaa gggtaatgg
2400 cacgagatcg atcaatttgc ttggcattt
2460 cgaccaatgt gcatgctgac actggatgt
2520 gcggaagtgg catcttcgtc cacaacgacg
2580 tgccagaaac gcccagatcc ctagcgaaga
2640 gcggagtcag atctgtcact agactggagc
2700 tgaacgtcct gctcaaagag aatgcagtgg
2760 ggagatatcg ctcaagccca aaacgcctgt
2820 ggaaagcatg gggaaaaagc attcttttgc
2880 tagatggacc tgagacaaag gaatgtcctg
2940 tcgaagactt cggcttgggt atcacatcaa
3000 gcactgacga gtgtgatgga gcgatcatag
3060 atagtgactt gtcgtactgg attgagagtc

gctacaacga cacatggaaa cttgagaggg
ggccagagac acacacttt tggggagatg
ataccatagc cgAACCAAAA agcaagcaca
agggaccttggacgaaaaac ggcatagtct
tcaccatcac agaggattgt ggcaagagag
gaaagtgtat tactgactgg tgctgtcgca
cagaaaaatgg ctgctggta cggaaatggaaa
tcgtcagatc acagggtgtat gctttcaatg
ttctggtgat gttctggcc acccaggagg
ccattcctgc ggtttgggg gccctgcttgc
atttggcgag gtatgtggtg ctatcgctg
acgtcctgca cttgttttgc attgccgtt
acatgcttag cacgagatgg acgaaccaag
tcttcaatt ggcctcagta gatctgcaaa
ctatagcatg gatgattgtt cgagcgatca
cagtcttagc gcttctaact ccggaaatga
tccttctcgat catagggatt tgctccctgc
agaaaaggagc tgtactttgc ggcttagcgc
ccatagctgc tggactaatg gtctgcaacc
agtttctgtc ggcagtcgga ttgtatgtttgc
ttgaatccat gtcaatacccttcatgctgg
3120 cagtccttgg agaggtcaaa tcttgcactt
3180 gtgttgagga aagtgaactc atcatcccgc
3240 atcggaggaa agggtacaaa acacaaaacc
3300 tggactttga ttattgccccca gggacaaaag
3360 gcccttcggt cagaaccact actgacagtg
3420 gttgctccct tccgcccccta cgattccgga
3480 teagacctgt taggcattat gaaacaacac
3540 gtgaaatggt tgacccttt cagctggcc
3600 tccttcgcaa gaggtggacg gccagattga
3660 tgctgatgct tgggggcatc acttacactg
3720 ctgcttcgc agaggccaaat aatggaggag
3780 ttaagatcca accagctttt ctatgtatga
3840 aaaacgtggt cctggccta gggctgcct
3900 tcggagtcga cggaaatcctg aatgccgccc
3960 cttccccac aacctcctcc gtcaccatgc
4020 gggctctata cctagacact tacagaatca
4080 tgcaagagag gaaaaagacc atggcaaaaa
4140 tcacatccac tggatggttc tcgccccacca
4200 caaacaagaa gagagggtgg ccagctactg
4260 ccatcgtagg tggttggcc gagttggata
4320 caggtcttat ggcagtcgtcc tacgtatgt

cagaaaaagc aacagatatg tggctcgaac
ctgcaatcac aggaagcagt cggaggctgg
acttGattGA tGatccGGC gttccatggA
gcttagccgc cctcacgcct tgggccattg
taaaaacaac aaaaagaggg ggcgtgttt
aaggagacac cactacagga gtctaccgaa
aggctggcgt cggagtcatg tacgagaatg
ggcagccat tatgagtggA gaaggaaaat
accgcatagc ttacggaggc ccatggagat
tgcaagtgtat cgtggtagaa ccggggaaagg
tgtttcggac ccccttcggg gaggttgggg
ccggctcacc cattctggat tccaatggag
agcttggcga tggctcatac gtcagcgcca
tcccagaagc ttacactcca aacatgttaa
accctggttc agggaaaacc aggaaaattc
agcgccctaag aacagctgtg ttggcaccga
ctttagagg gctccagta cgataccaaa
atgaaatagt ggatgtgatg tgccacgcca
gagtGCCCAA ctacaatctg tttgtcatgg
tagccgcacg aggatacatc gctaccaagg
tgacagcgac cccgcctgga accacggatc
4380 gggccgcccga catcagctgg gagatggatg
4440 atgtgaaact ggatgatgac ggagatTTc
4500 aagtttgggt cttgcgcAtg tcttgcattg
4560 ttcccggcgc tttcggttac tggctcactt
4620 gggacacgccc atccccgaaa ctttgcttaa
4680 tcatggctag agggattctt ggcacctacc
4740 ttttccacac actatggcac acaactagag
4800 tgacgccata ctggggtagc gtgaaagaag
4860 ttgatcgaaa atggaatggA acagatgacg
4920 ctgcggtaaa catccagaca aaaccaggag
4980 ctgttagcct ggattacccg cgaggaacat
5040 acatcatagg cctatacggc aatggagttg
5100 tcgtgcaggg tgaccgtcag gaggaaccag
5160 gaaagagaca gatgactgtg ttagatttgc
5220 tgccacaaat aattaaggat gcaatccagc
5280 cgcgggtggc agcagcagaa atggcagaag
5340 cttagcagt gcagagagag caccaaggga
5400 ctctgaccca cagattgatg tcaccgaaca
5460 atgaagctca tttcaccgac ccagccagca
5520 tggaattagg agaggcagca gccatctta
5580 cttttcccgA ctcaaAtgcc ccaatccatg

atttacaaga tgagatacca gacagggcat
atgcggtaa aaccgtgtgg tttgtggcga
gcctccaaag agcggaaaa aaggtcatcc
acccaaaatg taagaatgga gactgggatt
gggctaactt cggtgcgagc agggtcatcg
tagaagaggg agaaggcaga gtcattctcg
cagctcaacg gagggcaga gttagcagaa
atggagggc taccagtcaa gatgacagta
tgttagacaa catacacatg cccatggc
aaaaggctt cacaatggat ggcgaatacc
tagagctgct taggacggct gacccctccgg
gcattcagta caccgacaga aagtggtgg
aggacaacac cgaggttagag atagtcaccc
gatggcttga tgcaagagta tacgcagatc
cagcagggaaa gagatcggcc gtttagttca
tcatggggaaa gacgcggaa gctttagaca
gtgggaaggc acaccgaatg gctctcgaag
ttattttgc catcaactgtatgacaggag
gtataggaa gatgggtctt ggagctctag
cggcagaggt tcctggAACc aaaatagcag
tggttctcat cccagaaccg gaaaaacaga
5640 ggagcagtgg atacgaatgg atcacagaat
5700 gcgtaaaaat gggaatgag attgcaatgt
5760 aactcaaccg caagtccat gacacagaat
5820 ttgtcattac caccgacatc tctgaaatgg
5880 actgcagaaa gagcgtgaaa cccaccatct
5940 gaaacccatc tccataacc agtgctagcg
6000 accccaacca agtggagat gaataccatt
6060 acctagccca ttggacagag gcaaagatca
6120 tggtggccca gctctatgga ccagagaggg
6180 gtctcagggg tgaagaaaag aaaaacttct
6240 tgtggctggc ctataaggtg gcgtccaaatg
6300 ttgatgggcc ggcacgaat gccatactgg
6360 ggatgggtga gagaagatc ctcaagccga
6420 accaagccct caagtggttc aaagactttg
6480 tagaggtgct cggtcgcatg cctgagcatt
6540 ccatgtactt ggtcgcaacg gctgagaag
6600 agttgccgga tgcactggaa accatcacac
6660 gattcttcct actaatgatg cagcgaaagg
6720 tgctcacgct agctacccccc ttccctgtgg
6780 ggaccctgct gatcgccctg ctgctgatgg
6840 ggtcacagac agacaaccaa ctagcggtgt

ttctcatctg cgtctgacc gtggttggag
aaaaaaaccaa agcagatctc aagagcatgt
ctggattgcc aagcatggca ctggacctgc
ggagcacagt tgtgctaacc cctcttctga
catcgcttagc ctcaattaac tcacaagctg
ctttcaccga tctagacctg accgttggcc
ccctcacaac gttttgaca gccatggtc
ctggatggca agcagaagca ctcagggctg
agaatgccgt tggtgacgga atggtcgcc
ctctgatgca aaagaaaagtc ggacaggtgc
tcgtcaaccc taatgtcacc actgtgagag
tcaccttgtg ggataatgga gccagtgc
gccatgtcat gcgaggtagc tacctggctg
acgctgacaa gccctccttg aaaagggaa
ggaaggaaaa actaaatgcc atgagcagag
taatcgaggt ggaccgcact gaagcacgca
gacatccggt ttgcgcgaggc tcagcaaaac
cgccaatagg aaaagtctt gatcttagggt
caaccctgaa gaaggccag gaagtccag
agccgatgct catgcagagc tacggctgga
tgttctacaa accttcagag cctagtgaca
6900 tggtggcagc aaacgagtac gggatgctag
6960 ttggcggaaa gacacaggca tcaggactga
7020 gtccagccac agcctggca ctgtatgggg
7080 agcacctgat cacgtcgaa tatgtcacca
7140 gctcattatt cgtcttgcca cgaggcgtgc
7200 tcgtcttcct tggctgctgg ggtcaaatca
7260 tggcgacact tcactatggg tacatgctcc
7320 cccagagaag gacggcggct ggaataatga
7380 ctgatgtgcc tgaactggaa aggactactc
7440 tcctcatagg ggtgagcgtg gcagcgittc
7500 aagcaggggt gttggtgacg gcggtacgc
7560 tttggaattc caccacagcc acgggactct
7620 gaggctctat tgcttgact cttatcaaga
7680 ggcctggggg caggacgcta ggggagcagt
7740 aagagtttt taaataccgg agagaggcca
7800 gggctagacg taaaataac atagtggag
7860 tccgttggct cgtggagaaa ggattcgtct
7920 gtggcgtgg aggatggagc tactacgc
7980 gatacacgaa aggtggggcg ggacatgaag
8040 acctggtctc cttgaagagt ggagtggatg
8100 ccctgttctg tgacataggg gaatcctccc

caagtccaga agtggaaagaa caacgcacac
tgcatcgagg acccagagag ttctgcataa
tagaaaaaat ggaagttctg cagcgccgct
cccgaaactc caatcacgag atgtattggg
ctgtAACAT gaccagccag gtactactgg
caaagtatga ggaagatgtc aacctaggta
ttcatagcaa tcaggagaaa atcaagaaga
caacgtggca caaagaccct gaacacccat
aggtgaaggc tactggctca gccagctctc
aaccttggga cgccattgcc aacgtcacca
gacagcaaag agtttcaag gagaaagtgg
tcaaggaagt gctcaacgag accaccaact
gaccccgctt gtgcaccaag gaagaattta
gagcagtgtt tgctgaacag aatcaatgg
ggtttggga gatggtaat gaagagaggg
gtatctacaa catgatggga aaaagagaga
ggagcaggc cattgggttc atgtggcttg
ggttcctgaa tgaagaccac tggctgagcc
caggcgtcca aaagtggga tacatcctcc
tgtacgctga tgacaccgccc gggtgggaca
aagctaaggta gctggagctc cttagatggta
8160 tacgcgtcct agagatgaca tccgattgg
8220 aagttctctg cccttacatg cccaaggta
8280 tcggaggtgg gctagtagt ctccccctgt
8340 ttagtggagc cgctggcaat gtgggcac
8400 ggcgaatggta tcgcacagtg tggagaggc
8460 gcggacaacaag agccgtggga aaggagaaag
8520 gaatccagaa gcttaagaa gaattcgcca
8580 accgcacttg gacataaccac ggaagctatg
8640 tcgtcaacgg agtggtaag ctcatgagta
8700 ccatggccat gactgacacc acccctttg
8760 acacgaaagc tcctgagcca ccagctggag
8820 ggctgtgggc ccacttgtca cggaaaaaaa
8880 taaagaaagt caatagcaac gcggctctg
8940 gcacggcgcg tgaggctgtg gacgacccgc
9000 aaaaccatct gcgaggagag tgtcacacat
9060 agaagcctgg agagtttggaa aagctaaag
9120 gagcacggta tcttgagttt gaagctttgg
9180 gagagaattc aggaggtggta gtagaaggct
9240 gtgacatagc aggaaagcaa ggaggaaaa
9300 ctagaattac tagaactgat ttagaaaatg
9360 aacaccgcat gctcgcccg gcccataattg

aactgactta caggcacaaa gtggtcaagg
tcatggacgt gatatcaaga gaagaccaa
tcaacacttt cacgaacatc gctgtccagc
ttgggccaca acacttgaa cagctgccta
tcttgagaa tggagaggag agagtgacca
tcaagccgct ggacgacaga ttgcacgg
ttagaaaaga catccagggaa tggaagcctt
ccttctgctc taaccacttt caggagattg
cgtgcagagg acaggatgag ctgataggca
atgtgaagga cacagcttgc ctggcaaaag
tccatcgtag ggacctgcgt ctcatggcaa
gggtgcccac aggcaggaca tcctggtcaa
aagacatgct gcaggtctgg aacagagtct
agactcccgt cacaagctgg acagacgttc
gtggcagcct catcggaacg cggtccagag
taaaccaggt tagagctgtc attggaaag
ggagatacga agacgtcttgc atccaggaag
aatgtaaata atgtgaatga gaaaatgcat
accggatact ggtagacgg tgctgcgtc
atctgacaac agaaagttagt aaagccctca
tggaagttga aagaccaacg tcaggccacg
9420 tcatgagacc tgcagcagaa ggaaagaccg
9480 gggggagtgg acaggtggtc acttatgctc
9540 tcgttaggct gatggaggct gagggggtca
9600 ggaaaaacaa gatagctgtc aggacttggc
9660 ggtatggcgat cagcggagac gactgtgtcg
9720 ccctccattt cctcaacgca atgtcaaagg
9780 cgcacggctg gcacgattgg cagcaagttc
9840 tcatgaaaga cggaaggagt atagttgtcc
9900 gggctcgcat ctctccagga gctggatgga
9960 catatgcaca gatgtggcta ctcctatact
10020 atgcgatttgc tctcaggatgtt ccagtggatt
10080 tacactcgaa aggagagtgg atgaccacgg
10140 ggattgaaga aaatgaatgg atgatggata
10200 cgtatgtggg aaagcgtgag gacatctgg
10260 caacctggc tgagaacatc tatgcggcga
10320 aaaattatgt tgactacatg acctcactca
10380 acagggtcat ctagtgtgac ttaaggtaga
10440 gtatatggag tcaggccagc aaaagctgcc
10500 gtctcagtc caggaggact gggttaacaa
10560 gaaccgtctc ggaagttagt ccctgctcac
10620 aatttgtgcc actccgctgg ggagtgcggc

ctgcgcagcc ccaggaggac tgggttacca	10680 aagccgttga ggccccacg gcccaagcct
cgtctaggat gcaatagacg aggtgttaagg	10740 actagaggtt agaggagacc ccgtggaaac
aacaacatgc ggcccaagcc ccctcgaaagc	10800 tgttagaggag gtggaaggac tagaggttag
aggagacccc gcatttgcatt caaacagcat	10860 attgacacct gggaaatagac tgggagatct
tctgctctat ctcaacatca gctactaggc	10920 acagagcgcc gaagtatgtt gctgggttgt
aggaagaaca caggatctt agagcggccg	10980 cggaccgact agcctttttt cggccttcgc
tgagagggat ttgttcccta ggcctaatta	11040 ttatttttaa ttgccaata cgtatacgg
tgcctttct aattctcgta tactatagt	11100 agtcgtttaa tctagccgcc cggccgtcg
accaattctc atgtttgaca gcttatcatc	11160 gaatttctgc cattcatccg cttattatca
cttattcagg cgtagcaacc aggcgtttaa	11220 gggcaccaat aactgcctta aaaaaattac
gccccgcctt gccactcatc gcagtactgt	11280 tggtaattcat taagcattct gccgacatgg
aagccatcac aaacggcatg atgaacctga	11340 atcgccagcg gcatcagcac cttgtgcct
tgcgtataat atttgcctt ggtgaaaacg	11400 ggggcgaaga agttgtccat attggccacg
tttaaatcaa aactggtgaa actcacccag	11460 ggattggctg agacgaaaaa catattctca
ataaacccctt tagggaaata ggccaggttt	11520 tcaccgttaac acgccacatc ttgcgaatat
atgttagaa actgcccggaa atcgctgtgg	11580 tattcactcc agagcgatga aaacgttca
gttgctcat ggaaaacggt gtaacaagg	11640 tgaacactat cccatatcac cagctcaccg
tcttcattt ccatacgaa ttccggatga	11700 gcattcatca ggcgggcaag aatgtgaata
aaggccggat aaaacttgc ctattttc	11760 tttacggtct taaaaaggc cgtaatatcc
agctgaacgg tctgggtata ggtacattga	11820 gcaactgact gaaatgcctc aaaatgttct
ttacgatgcc attggatata atcaacggtg	11880 gtatatccag tgatttttt ctccattttt

gcttccttag ctccctgaaaa tctcgataac	11940 tcaaaaata cgcccggtag tgatcttatt
tcattatggt gaaagtggaa acctcttacg	12000 tgccgatcaa cgtctcattt tcgccaaaag
ttggcccagg gcttcccgt atcaacagg	12060 acaccaggat ttatttattc tgcgaagtga
tcttcgtca caggtattta ttgcgcataa	12120 gctcatggag cggcgttaacc gtgcacagg
aaggacagag aaagcgccga tctgggaagt	12180 gacggacaga acggtcagga cctggattgg
ggaggcgggtt gccgcgcgtg ctgctgacgg	12240 tgtgacgttc tctgttccgg tcacaccaca
tacgttccgc cattcctatg cgatgcacat	12300 gctgtatgcc ggtataccgc taaaagttct
gcaaaggctg atggcacata agtccatcag	12360 ttcaacggaa gtctacacga aggttttgc
gctggatgtg gctgcccggc accgggtgca	12420 gtttgcgatg ccggagtctg atgcggttgc
gatgctgaaa caattatcct gagaataaat	12480 gccttggcct ttatatggaa atgtggaact
gagtggatat gctgttttg tctgttaaac	12540 agagaagctg gctgttatcc actgagaagc
gaacgaaaca gtcggaaaaa tctccattt	12600 tcgttagagat ccgcatttatt aatctcagga
gcctgtgtag cgtttataagg aagtagtgtt	12660 ctgtcatgat gcctgcaagc ggttaacgaaa
acgatttcaa tatgccttca ggaacaatag	12720 aaatcttcgt gcgggtttac gttgaagtgg
agcggattat gtcagcaatg gacagaacaa	12780 cctaatacgtt acagaaccat gatgtggct
gtccctttac agccagtagt gctgcccga	12840 gtcgagcgac agggcgaagc cctcgagtga
gcgaggaagc accaggaaac agcacttata	12900 tattctgctt acacacgtt cctgaaaaaa
cttcccttgg gtttatccac ttatccacgg	12960 ggatattttt ataattttt tttttatagt
tttagatct tcttttttag agcgccttgt	13020 aggccttat ccatgctggt tctagagaag
gttttgtgac aaattgcct ttcagtgtga	13080 caaatcaccc tcaaatgaca gtcctgtctg
tgacaaattt cccttaaccc tggacaaat	13140 tgccctcaga agaagctgtt ttttcacaaa

gttatccctg cttattgact ctttttatt 13200 tagtgtgaca atctaaaaac ttgtcacact
tcacatggat ctgtcatggc ggaaacagcg 13260 gttatcaatc acaagaaaacg taaaaatagc
ccgcgaatcg tccagtcaaa cgacctcact 13320 gaggcggcat atagtctctc ccgggatcaa
aacacgtatgc tgtatctgtt cgttgaccag 13380 atcagaaaaat ctgatggcac cctacagggaa
catgacggta tctgcgagat ccatgttgct 13440 aaatatgctg aaatattcgg attgacactct
gcggaagcca gtaaggatatacggcaggca 13500 ttgaagagtt tcgcgggaa ggaagtgggtt
tttatcgcc ctgaagagga tgccggcgat 13560 gaaaaaggct atgaatctt tccttggttt
atcaaacgtg cgcacagtcc atccagaggg 13620 ctttacagt tacatatcaa cccatatctc
attcccttct ttatcggtt acagaaccgg 13680 tttacgcagt ttccggcttag tgaaacaaaa
gaaatcacca atccgtatgc catgcgtta 13740 tacgaatccc tgtgtcagta tcgtaagccg
gatggctcag gcatcgtctc tctgaaaatc 13800 gactggatca tagagcgtta ccagctgcct
caaagttacc agcgtatgcc tgacttccgc 13860 cgccgcttcc tgccaggctg tgttaatgag
atcaacagca gaactccaat gcgcctctca 13920 tacattgaga aaaagaaaagg ccggccagacg
actcatatcg tatttcctt ccgcgatatac 13980 acttccatga cgacaggata gtctgagggt
tatctgtcac agatttgagg gtggttcgctc 14040 acatttggtc tgacctactg aggtaattt
gtcacagttt tgctgttcc ttccgcctgc 14100 atggatttcc tcatacttt tgaactgtaa
tttttaagga agccaaattt gagggcagtt 14160 tgtcacagtt gatttccttc tcttccctt
cgtcatgtga cctgatatacg ggggttagtt 14220 cgtcatcatt gatgagggtt gattatcaca
gttattact ctgaattggc tatccgcgtg 14280 tgtacctcta cctggagttt ttcccacgg
ggatatttct tcttgcgctg agcgtaagag 14340 ctatctgaca gaacagttct tcttgcctc
ctcgccagtt cgctcgctat gctcggttac 14400 acggctgcgg cgagcgctag tgataataag

tgactgaggt atgtgcttt ctatctcct 14460 tttgttagtgt tgcttttatt ttaaacaact
ttgcggttt ttgatgactt tgcgattttg 14520 ttgttgcttt gcagtaaatt gcaagattta
ataaaaaaac gcaaagcaat gattaaagga 14580 tggtcagaat gaaactcatg gaaacactta
accagtgcattt aaacgctggt catgaaatga 14640 cgaaggctat cgccattgca cagttaatg
atgacagccc ggaagcgagg aaaataaccc 14700 ggccgtggag aataggtgaa gcagcggatt
tagttgggt ttcttctcag gctatcagag 14760 atgccgagaa agcagggcga ctaccgcacc
cgatatgga aattcgagga cgggttgagc 14820 aacgtgttgg ttatacaatt gaacaaatta
atcatatgcg tggatgtttt ggtacgcgt 14880 tgcgacgtgc tgaagacgta ttccaccgg
tgatcgggt tgctgccccat aaaggtggcg 14940 tttacaaaac ctcagttct gttcatcttgc
ctcaggatct ggctctgaag gggctacgtg 15000 ttttgctcgt ggaaggtaac gaccccccagg
gaacagcctc aatgtatcac ggatgggtac 15060 cagatctca tattcatgca gaagacactc
tcctgcctt ctatcttggg gaaaaggacg 15120 atgtcactta tgcaataaag cccacttgct
ggccgggct tgacattatt ctttcctgtc 15180 tggctctgca ccgtattgaa actgagttaa
tggcaattt tgatgaaggt aaactgcccc 15240 ccgatccaca cctgatgctc cgactggcca
ttgaaaactgt tgctcatgac tatgtatgtca 15300 tagttatgaa cagcgcgcct aacctggta
tcggcacgt taatgtcgta tgtgctgctg 15360 atgtgctgat tttccacg cctgctgagt
tgtttgacta cacctccgca ctgcagtttt 15420 tcgatatgct tcgtgatctg ctcaagaacg
ttgatcttaa agggttcgag cctgatgtac 15480 gtatttgct taccaaatac agcaatagta
atggctctca gtccccgtgg atggaggagc 15540 aaattcggga tgccctgggaa agcatggttc
taaaaaatgt tgtacgtgaa acggatgaag 15600 ttggtaaagg tcagatccgg atgagaactg
ttttgaaca ggccattgtat caacgcttt 15660 caactggtgc ctggagaaat gctttctta

tttgggaacc tgtctgcaat gaaattttcg
gataatgaag cgtgcgcctg ttattccaaa
tacttcgtta tcgacaccag ctgccccgat
aatggctcgc ggtaatgcc a ttaactttgcc
tgaagtgctc cggggtgata gtgttgagaa
tgaccaggag ctgcttactg aggacgcact
tggtaaacag acacccggcgt tcggtcgaag
gagtcgccgt cgtaaagctg ctgcacttac
gctggatgat gagcagatgg ctgcattatc
tgcttatgaa cgtggtcagc gttatgcaag
ttctgcgctg gctgatgcgg aaaatattc
cgccaaatttgc cctaaatcag ttgttgctct
gtcaggtgat gcacttcaaa aagcctttac
atctaacctt catgagcaga aaaaagctgg
tcttttaact tctgtgctta aaacgtcatc
tcagtttgct cctggagcga cagtattgta
caggtctcgt gttccaactg agtgtataga
aaagccagca ccctgatgcg accacgttt
cctttgttac aggccagaaa gcataactgg
acttgtatcg tcggtctgat aatcagactg
gattattagt ctgggaccac ggtcccactc
15720 atcgtctgat taaaccacgc tgggagatta
15780 acatacgctc aatactcaac cggttgaaga
15840 ggtggattcg ttaattgcgc gcgttaggagt
15900 tttatgtgggt cgggatgtga agtttactct
15960 gacctctcggtatggtcag gtaatgaacg
16020 ggatgatctc atcccttctt ttctactgac
16080 agtatctgggt gtcatagaaa ttggccatgg
16140 cgaaagtgtatcgtgttc tggttggcga
16200 cagattgggt aacgattatc gcccaacaag
16260 ccgattgcag aatgaatttgc tggaaatat
16320 acgtaaagatt attacccgct gtatcaacac
16380 ttttctcac cccggtaac tatctgccc
16440 agataaagag gaattactta agcagcaggc
16500 ggtgatattt gaagctgaag aagttatcac
16560 tgcataaga actatgtttaa gctcacgaca
16620 taagggcgat aaaatggtgc ttaacctgg
16680 gaaaattgag gccattctta aggaacttga
16740 agtctacgtt tatctgtctt tacttaatgt
16800 cctgaatatt ctctctggc ccactgttcc
16860 ggaccacggt cccactcgta tcgtcggtct
16920 gtatcggttctgattt agtctggac

cacggtccca ctcgtatcgt cggtctgata	16980 atcagactgg gaccacggtc ccactcgat
cgtcggtctg attattagtc tgggaccatg	17040 gtcccactcg tatcgctggt ctgattatta
gtctgggacc acggtcccac tcgtatcgac	17100 ggtctgatta ttatgtcgga accacgggcc
cactcgatc gtcggctctga ttattagtc	17160 gggaccacgg tccactcgat atcgctggc
tgattattag tctgggacca cgatcccact	17220 cgtgttgtcg gtctgattat cggtctggaa
ccacggtccc acttgtattt tcgatcagac	17280 tatcagcgtg agactacgt tccatcaatg
cctgtcaagg gcaagtattt acatgtcgac	17340 gtaacctgta gaacggagta acctcggtgt
gcggttgtat gcctgctgtg gattgctgt	17400 gtgtcctgct tatccacaac atttgcgc
cggttatgtg gacaaaatac ctggttaccc	17460 aggccgtgcc ggcacgttaa ccgggctgca
tccgatgcaa gtgtgtcgct gtcgacgagc	17520 tcgcgagctc ggacatgagg ttgcgggtta
ttcagtgtcg ctgatttgta ttgtctgaag	17580 ttgtttttac gttaagttga tgcagatcaa
ttaatacgat acctgcgtca taattgatta	17640 tttgacgtgg tttgatggcc tccacgcacg
ttgtatgtg tagatgataa tcattatcac	17700 tttacgggtc cttccgggtg atccgacagg
ttacggggcg ggcacccgc gggttttcg	17760 tatttatgaa aattttccgg tttaaaggcgt
ttccgttctt cttcgatata acttaatgtt	17820 tttatTTAAA ataccctctg aaaagaaaagg
aaacgacagg tgctgaaagc gagcttttg	17880 gcctctgtcg tttcccttct ctgttttgt
ccgtggaatg aacaatggaa gtccgagctc	17940 atcgctaata acttcgtata gcatacatta
tacgaagtttattcgatgc ggcgctgagg	18000 tctgcctcgta gaagaaggtt ttgctgactc
ataccaggcc tgaatcgccc catcatccag	18060 ccagaaagtgg agggagccac ggttgatgag
agcttttgtt taggtggacc agttggat	18120 tttgaacttt tgctttgcca cggaacggtc
tgcgttgtcg ggaagatgcg tgatctgatc	18180 cttcaactca gcaaaagtgc gattttattca

acaaagccac gtgtctaaa atctctgatg	18240 ttacattgca caagataaaa atatatcatc
atgaacaata aaactgtctg cttacataaa	18300 cagtaataca aggggtgtta tgagccatat
tcaacggaa acgtttgct cgacgatgat	18360 aagctgtcaa acatgagaat tgggtcgta
atatgctaaa acgcggcata ccccgctat	18420 tcccactagt taattaacct gcagggggct
gttagaggtc ttccctagtc caactatagc	18480 gtatggacat attgtcgta gaacgcggct
acaattaata cataacctta tgtatcatac	18540 acatacgatt tagggacac tatag
18565 <210> 46 <211> 19038 <212> DNA <213> Artificial Sequence <220> <	
223> sequence for pBACT7/JVFL/XhoI <400> 46 agaagttat ctgtgtgaac ttcttgctt	
agtatcggtt agaagaatcg agagattagt	60 gcagttaaa cagttttta gaacggaaga
taaccatgac taaaaaacca ggagggcccg	120 gtaaaaaccg ggctatcaat atgctgaaac
gcggcctacc ccgcgtattc ccactagtg	180 gagtgaagag ggttagtaatg agcttgg
acggcagagg accagtacgt ttcgtgctgg	240 ctcttatcac gttttcaag tttacagcat
tagccccgac caaggcgctt ttaggccat	300 ggaaagcagt ggaaaagagt gtggcaatga
aacatcttac tagttcaaa cgagaacttg	360 gaacactcat tgacgcccgtg aacaagcggg
gcagaaagca aaacaaaaga ggaggaaatg	420 aaggctcaat catgtggctc gcgagtttgg
cagttgtcat agcttgtta ggagccatga	480 agttgtcaa ttccaagg aagctttga
tgaccattaa caacacggac attgcagacg	540 tcatcgat tcctaccta aaaggagaga
acagatgctg ggtccggca atcgatgtcg	600 gctacatgt tgaggacact atcacgtacg
aatgtcctaa gcttaccatg ggcaatgatc	660 cagaggatgt ggattgctgg tgtgacaacc
aagaagtcta cgtccaaatggacggtgca	720 cgccggaccag gcattccaag cgaagcagga
ggtccgtgtc ggtccaaaca catggggaga	780 gttcactagt gaataaaaaa gaggctggc

tggattcaac gaaagccaca cgatatctca
ctggctatgc tttccctggcg gcggtaactg
gcgtggtgtt taccatcctc ctgctgttg
gaatggcaa ccgtgacttc atagaaggag
tagaaggaga tagctgcttg acaatcatgg
tgattaacat cgaagccagc caacttgctg
tcactgacat ctcgacggtg gctcggtgcc
gagctgatag tagctatgtg tgcaaacaag
gtggactttt cgaaaaggga agcattgaca
cgattggag aacaatccag ccagaaaaca
gaaccaccac ctcggaaaac catggaaatt
caaagtttac agtaaacaccc aatgctcctt
aagtacacact ggactgtgaa ccaaggagtg
ccgtgggtc aaagtcattt ctggccata
ggacgtcccc ttcgagcaca gcgtggagaa
cgcacgcccac aaaacagtcc gttgttgctc
cgctggcagg agccatcgtg gtggagtact
tggaaatgttag gctgaaaatg gacaaactgg
cagaaaaatt ctcgttcgca aaaaatccgg
aactctccta ttctgggagt gatggcccct
tcaatgacat gaccccggtt gggcggctgg
840 tgaaaactga gaactggatc ataaggaatc
900 gctggatgct tggcagtaac aatggtcaac
960 tcgctccggc ttacagttt aattgtctgg
1020 ccagtggagc cacttgggtg gacttagtgc
1080 caaacgacaa accaacattg gacgtccgca
1140 aggtcagaag ctactgctat catgcttcag
1200 ccacgactgg agaagcccac aacgagaagc
1260 gtttcaactga tcgtgggtgg ggcaacggat
1320 catgtgcaaa atttcctgc accagtaagg
1380 tcaaatacga agtggcatt ttgtgcatt
1440 attcagcgca agtagggcgc tcccaggcgg
1500 cgataaccct caaacttggt gactacggag
1560 gactgaacac tgaagcgtt tacgtcatga
1620 ggaaatggtt tcatgacctc gctctcccct
1680 acagagaact cctcatggaa tttgaagagg
1740 ttgggtcaca ggaaggaggc ctccatcagg
1800 caagctcagt gaagttaaca tcaggccacc
1860 ctctgaaagg cacaacctat ggcattgtgt
1920 cggacactgg ccacggaaaca gttgtcattt
1980 gcaaaattcc gatgtctcc gttgcgagcc
2040 tgacagtgaa ccccttcgatc gcgacttcca

gtgccaactc aaagggtgctg gtcgagatgg
ttggaagggg agacaagcag atcaaccacc
aggcttttc aacaactttg aaggaggctc
gggactttgg ctctattgga ggggtcttca
tttgtggcgc tttcagaaca ctctttgggg
tgccctact actctggatg ggcataacg
tggccacagg aggtgtgctc gtgttcttag
ccattgacat cgcaagaaaa gagatgagat
tggaaaggctg ggtggatagg tataaatatt
tcgtccacaaa agcgcacaag gaaggcgtgt
accaaattgtg ggaagccgtg cgggacgaat
acctcagtgt ggttgtgaac aagcccgtgg
ccatgacgca agagaagttt gaaatggct
ccccggatt ggctaactcc acatttgg
atgagcacag agccttggAAC agcatgcaaa
cccggtgtg gctgaagatt agagagggaa
gcacagctgt caaaggacat gtggcagttc
gctacaacga cacatggaaa cttgagaggg
ggccagagac acacacttt tggggagatg
ataccatagc cgAACccaaa agcaagcaca
agggacccggc ggacgaaaac ggcatagtct
2100 aaccccccctt cgaggactcc tacatcgtag
2160 attggcataa agctggaagc acgctggca
2220 aaagactggc agcgttggc gacacagcct
2280 actccatagg aaaggccgtt caccaagtgt
2340 gaatgtcttg gatcacacaa gggttaatgg
2400 cacgagatcg atcaattgct ttggccctct
2460 cgaccaatgt gcatgctgac actggatgtg
2520 gcggaaagtgg catcttcgtg cacaacgacg
2580 tgccagaaac gcccagatcc ctagcgaaga
2640 gcggagtcag atctgtcact agactggagc
2700 tgaacgtcct gctcaaagag aatgcagtgg
2760 ggagatatcg ctcagccccaa aacgcctgt
2820 ggaaagcatg gggaaaaagc attctctttg
2880 tagatggacc tgagacaaag gaatgtcctg
2940 tcgaagactt cggcttgggt atcacatcaa
3000 gcactgacga gtgtgatgga gcgatcatag
3060 atagtgactt gtcgtactgg attgagagtc
3120 cagtcttgg agaggtaaaa tcttgactt
3180 gtgttgggaa aagtgaactc atcatccgc
3240 atcggaggga aggtaaaaa acacaaaaacc
3300 tggactttga ttattgccca gggacaaaaag

tcaccatcac agaggattgt ggcaagagag
gaaagttgat tactgactgg tgctgtcgca
cagaaaatgg ctgctggtaac ggaatggaaa
tcgtcagatc acaggtttagt gctttcaatg
ttctggtgat gtttctggcc acccaggagg
ccattcctgc gttttgggg gccctgcttg
atttggcgag gtatgtggtg ctagtcgctg
acgtcctgca ctttgctttt attgccgtt
acatgcttag cacgagatgg acgaaccaaag
tcttcaatt ggcctcagta gatctgcaaa
ctatagcatg gatgattttt cgagcgatca
cagtcttagc gtttctaact ccggaatga
tccttctcgat catagggatt tgctccctgc
agaaaggagc tgtactcttg ggcttagcgc
ccatagctgc tggactaatg gtctgcaacc
agtttctgtc ggcagtcgga ttgatgtttg
ttgaatccat gtcaatacccttcatgctgg
caggaaaagc aacagatatg tggctcgaac
ctgcaatcac aggaagcagt cggaggctgg
acttgattga tggatcccggc gttccatgg
gcttagccgc cctcacgcct tggccatgg
3360 gcccttcggc cagaaccact actgacagtg
3420 gttgctccct tccgcccccta cgattccgga
3480 tcagacctgt taggcattat gaaacaacac
3540 gtgaaatggt tgaccctttt cagctggcc
3600 tccttcgcaa gaggtggacg gccagattga
3660 tgctgatgct tgggggcattc acttacactg
3720 ctgcttcgc agaggccaaat aatggaggag
3780 ttaagatcca accagctttt ctagtcatg
3840 aaaacgtggc cctggcctta gggctgcct
3900 tcggagtcctt cggaaatcctg aatgcccgg
3960 cttccccac aacccctcc gtcaccatgc
4020 gggctctata cctagacact tacagaatca
4080 tgcaagagag gaaaaagacc atggcaaaaa
4140 tcacatccac tggatggttc tcgcccacca
4200 caaacaagaa gagagggtgg ccagctactg
4260 ccatcgtagg tgggtggcc gagttggata
4320 caggtcttat ggcagtcgtcc tacgtatgt
4380 gggccggcga catcagctgg gagatggatg
4440 atgtgaaact ggatgtgac ggagatttc
4500 aagtttgggt cttgcgcattg tcttgcattg
4560 ttcccgccgc tttcggttac tggctcaattt

taaaaacaac aaaaagaggg ggcgtgttt
aaggagacac cactacagga gtctaccgaa
aggctggcgt cgaggatcatg tacgagaatg
ggcagccat tatgagtggaa gaaggaaaaat
accgcatacg ttacggaggc ccatggagat
tgcaagtgtat cgtggtagaa ccggggaaagg
tgttcggac cccctcggg gaggttgggg
ccggctcacc cattctggat tccaatggag
agcttggcga tggctcatac gtcagcgcca
tcccagaagc ttacactcca aacatgttaa
accctggttc agggaaaacc aggaaaattc
agcgcctaag aacagctgtg ttggcaccga
ctttagagg gctcccagta cgataccaaa
atgaaatagt ggatgtgatg tgccacgcca
gagtgcccaa ctacaatctg tttgtcatgg
tagccgcacg aggatacatc gctaccaagg
tgacagcgac cccgcctgga accacggatc
atttacaaga tgagatacca gacagggcat
atgcggtaa aaccgtgtgg tttgtggcga
gcctccaaag agcggaaaaa aaggtcatcc
accaaaaatg taagaatggaa gactggatt
4620 gggacacgccc atccccgaaa ccttgcttaa
4680 tcatggctag agggattctt ggcacctacc
4740 tttccacac actatggcac acaactagag
4800 tgacgcccata ctggggtagc gtgaaagaag
4860 ttgatcgaaa atggaatggaa acagatgacg
4920 ctgcggtaaa catccagaca aaaccaggag
4980 ctgttagcct ggattacccg cgaggaacat
5040 acatcatagg cctatacggc aatggagttg
5100 tcgtgcaggg tgaccgtcag gaggaaccag
5160 gaaagagaca gatgactgtg ttagattgc
5220 tgccacaaat aattaaggat gcaatccagc
5280 cgcgggttgt agcagcagaa atggcagaag
5340 cttcagcagt gcagagagag caccaaggaa
5400 ctctgaccca cagattgtatc tcaccgaaca
5460 atgaagctca tttcaccgac ccagccagca
5520 tggaattagg agaggcagca gccatctta
5580 ctttccgaa ctcaaattgcc ccaatccatg
5640 ggagcagtgg atacgaatgg atcacagaat
5700 gcgtaaaaat gggaaatgag attgcaatgt
5760 aactcaaccg caagtcctat gacacagaat
5820 ttgtcattac caccgacatc tctgaaatgg

gggctaactt cgggtgcgagc agggtcattcg
tagaagaggg agaaggcaga gtcattctcg
cagctcaacg gaggggcaga gtaggcagaa
atggaggggc taccagtgaa gatgacagta
tgttagacaa catacacatg cccaatggc
aaaaggctt cacaatggat ggcgaatacc
tagagctgct taggacggct gacccctccgg
gcattcagta caccgacaga aagtggtt
aggacaacac cgaggttagag atagtcaccc
gatggcttga tgcaagagta tacgcagatc
cagcaggaaa gagatcggcc gttagctca
tcatggaaa gacgcggaa gctttagaca
gtggaaaggc acaccgaatg gctctcgaag
ttatgttgc catcaactgta atgacaggag
gtataggaa gatgggtctt ggagctctag
cgccagaggt tccttggaaacc aaaatagcag
tggttctcat cccagaaccg gaaaaacaga
tttcatctg cgtcttgacc gtggttggag
aaaaaaccaa agcagatctc aagagcatgt
ctggattgcc aagcatggca ctggacactgc
ggagcacagt tgtgctaacc cctttctga
5880 actgcagaaa gagcgtgaaa cccaccatct
5940 gaaacccatc tccataacc agtgcttagcg
6000 accccaacca agttggagat gaataccatt
6060 acctagccca ttggacagag gcaaagatca
6120 tggtggccca gctctatgga ccagagaggg
6180 gtctcagggg tgaagaaaag aaaaacttct
6240 tgtggctggc ctataaggtg gcgtccaaatg
6300 ttgatggcc ggcacgaat gccatactgg
6360 ggtatgggtga gagaaagatc ctcaagccga
6420 accaagccct caagtggttc aaagactttg
6480 tagaggtgct cggtcgcatt cctgagcatt
6540 ccatgtactt ggtcgcaacg gctgagaaag
6600 agttgccgga tgcactggaa accatcacac
6660 gattcttccct actaatgatg cagcgaaagg
6720 tgctcacgct agtacccctc ttcctgtggg
6780 ggaccctgct gatcgccctg ctgctgatgg
6840 ggtcacagac agacaaccaa ctagcgggt
6900 tggtggcagc aaacgagttac gggatgttag
6960 ttggcggaaa gacacaggca tcaggactga
7020 gtccagccac agcctggca ctgtatgggg
7080 agcacctgat cacgtcgaa tatgtcacca

catcgctagc ctcaattaac tcacaagctg
cttcaccga tctagacctg accgttggcc
ccctcacaac gttttgaca gccatggttc
ctggatggca agcagaagca ctcaggctg
agaatgccgt tggtagcggta atggtcgc
ctctgatgca aaagaaaatgc ggacaggtgc
tcgtcaaccc taatgtcacc actgtgagag
tcaccttgtg ggataatggaa gccagtgc
gccatgtcat gcgaggtagc tacctggctg
acgctgacaa gccctccttg aaaagggaa
ggaaggaaaa actaaatgcc atgagcagag
taatcgaggt ggaccgcact gaagcac
gacatccggt ttgcgaggc tcagcaaaac
cgccaatagg aaaagtctt gatcttaggt
caaccctgaa gaaggtccag gaagtc
agccgatgct catgcagagc tacggctg
tgttctacaa accttcagag cctagt
caagtccaga agtggaaagaa caacgc
tgcatcgagg acccagagag ttctgcataa
tagaaaaaaat ggaagttctg cagcgcc
ccgaaactc caatcacgag atgtattgg
7140 gtcattatt cgtttgccca cgaggcgtgc
7200 tcgtcttcct tggctgctgg ggtcaa
7260 tggcgacact tcactatggg tacatg
7320 cccagagaag gacggcggct ggaataat
7380 ctgatgtgcc tgaactggaa aggactact
7440 tcctcatagg ggtgagcgtg gcagcg
7500 aagcaggggt gttggtgacg gcggctac
7560 tttggaaattc caccacagcc acgg
7620 gaggcttat tgcttggact cttatca
7680 ggcctgggg caggacgcta ggg
7740 aagagtttt taaataccgg agagagg
7800 gggctagacg taaaataac atagtgg
7860 tccgttggct cgtggagaaa ggattcg
7920 gtggcgtgg aggatggagc tactac
7980 gatacacgaa aggtggcg ggacat
8040 acctggtctc cttgaagagt ggagtgg
8100 ccctgttctg tgacataggg
8160 tacgcgtcct agagatgaca tccgatt
8220 aagttctctg cccttacatg cccaagg
8280 tcggagggtgg gctagta
8340 ttagtggagc cgctggcaat gtgg
tgac

ctgtgaacat gaccagccag gtactactgg
caaagtatga ggaagatgtc aacctaggta
ttcatagcaa tcaggagaaa atcaagaaga
caacgtggca caaagaccct gaacacccat
aggtgaaggc tactggctca gccagctctc
aaccttggga cgccattgcc aacgtcacca
gacagcaaag agtttcaag gagaaagt tg
tcaaggaagt gctcaacgag accaccaact
gaccccgctt gtgcaccaag gaagaattta
gagcagtgtt tgctgaacag aatcaatgga
ggttttggga gatggtaat gaagagaggg
gtatctacaa catgatggga aaaagagaga
ggagcagggc catttggttc atgtggcttg
gttccctgaa tgaagaccac tggctgagcc
caggcgtcca aaagtggga tacatcctcc
tgtacgctga tgacaccgccc gggtggacaca
aagctaagggt gctggagctc ctagatggtg
aactgactta caggcacaaa gtggtcaagg
tcatggacgt gatatcaaga gaagaccaa
tcaacactt cacgaacatc gctgtccagc
ttgggccaca acacttgaa cagctgccta
8400 ggcgaatgga tcgcacagtg tggagagggc
8460 gcggaacaag agccgtggga aagggagaag
8520 .aatccagaa gcttaaagaa gaattcgcca
8580 accgcacttg gacataccac ggaagctatg
8640 tcgtcaacgg agtggtgaag ctcatgagta
8700 ccatggccat gactgacacc acccctttg
8760 acacgaaagc tcctgagccca ccagctggag
8820 ggctgtgggc ccacttgtca cggaaaaaaa
8880 taaagaaagt caatagcaac gcggctttg
8940 gcacggcgcg tgaggctgtg gacgaccgc
9000 aaaaccatct gcgaggagag tgtcacacat
9060 agaaggctgg agagtttggaa aaagctaaag
9120 gagcacggta tctagagttt gaagctttgg
9180 gagagaattc aggaggtggaa gtagaaggct
9240 gtgacatagc aggaaagcaa ggaggaaaa
9300 ctagaattac tagaactgat tttagaaaatg
9360 aacaccgcat gctcgcccg gccataattg
9420 tcatgagacc tgcagcagaa ggaaagaccg
9480 gggggagtgg acaggtggtc acttatgctc
9540 tcgttaggct gatggaggct gagggggtca
9600 ggaaaaacaa gatagctgtc aggacttggc

tcttgagaa tggagaggag agagtgacca
tcaagccgct ggacgacaga ttgcacgg
ttagaaaaga catccagga tgaaagcctt
cctctgctc taaccacttt caggagattg
cgtcagagg acaggatgag ctgataggca
atgtgaagga cacagcttgc ctggcaaaag
tccatcgtag ggacctgcgt ctcatggcaa
gggtgcccac aggcaggaca tcctggtaa
aagacatgct gcaggtctgg aacagagtct
agactcccgt cacaagctgg acagacgttc
gtggcagcct catcgaaacg cggtccagag
taaaccaggt tagagctgtc attggaaag
ggagatacga agacgtttg atccaggaag
aatgtaaata atgtaatga gaaaatgcat
accggatact gggtagacgg tgctgcctgc
atctgacaac agaaagttag aagccctca
tggaatgta aagaccaacg tcaggccacg
ctgcgcagcc ccaggaggac tgggttacca
cgtctaggat gcaatagacg aggtgttaagg
aacaacatgc ggcccaagcc ccctcgaagc
aggagacccc gcatttgcattt caaacagcat
9660 ggtatggcgat cagcggagac gactgtgtcg
9720 ccctccattt cctcaacgca atgtcaaagg
9780 cgcacggctg gcacgattgg cagcaagttc
9840 tggatgaaaga cggaaaggagt atagttgtcc
9900 gggctcgcat ctctccagga gctggatgga
9960 catatgcaca gatgtggcta ctcctatact
10020 atgcgatttg ctcagcagtgc ccagtggatt
10080 tacactcgaa aggagagtgg atgaccacgg
10140 ggattgaaga aaatgaatgg atgatggata
10200 cgtatgtggg aaagcgtgag gacatctgg
10260 caacctgggc tgagaacatc tatgcggcga
10320 aaaattatgt tgactacatg acctcactca
10380 acagggtcat ctagtgtgac ttaaggtaga
10440 gtatatggag tcaggccacg aaaagctgcc
10500 gtctcagtc caggaggact gggtaacaa
10560 gaaccgtctc ggaagtaggt ccctgctcac
10620 aatttgtgcc actccgctgg ggagtgcggc
10680 aagccgttga ggccccacg gcccaagcct
10740 actagaggtt agaggagacc ccgtggaaac
10800 tgttagaggag gtggaaaggac tagaggttag
10860 attgacaccc tggaaatagac tggagatct

tctgctctat	ctcaacatca	gctactaggc	10920	acagagcgcc	gaagtatgta	gctgggggtg
aggaagaaca	caggatctcg	agcggccgcg	10980	gaccgactag	cctcttttcg	gccttcgctg
agagggattt	gttccctagg	cctaattatt	11040	attttaattt	gcccaatacg	tatacgagtg
cctttctaa	ttctcgata	ctatagttag	11100	tcgtattatc	tagccgccc	ggccgtcgac
caattctcat	gttgacagc	ttatcatcga	11160	atttctgcc	ttcatccgct	tattatcact
tattcaggcg	tagcaaccag	gcgttaagg	11220	gcaccaataa	ctgccttaaa	aaaattacgc
cccgccctgc	cactcatcgc	agtactgttg	11280	taattcatta	agcattctgc	cgacatggaa
gccatcacaa	acggcatgat	gaacctgaat	11340	cgcgcggc	atcagcacct	tgtgccttg
cgtataatat	ttgccccatgg	tgaaaacggg	11400	ggcgaagaag	ttgtccatat	tggccacgtt
taaatcaaaa	ctggtgaaac	tcacccaggg	11460	attggctgag	acgaaaaaca	tattctcaat
aaacccttta	gggaaatagg	ccaggtttc	11520	accgtaacac	gccacatctt	gcgaatataat
gttagaaac	tgccggaaat	cgtcggtt	11580	ttcactccag	agcgatgaaa	acgtttcagt
ttgctcatgg	aaaacggtgt	aacaagggtg	11640	aacactatcc	catatcacca	gctcaccgtc
tttcattgcc	atacggaatt	ccggatgagc	11700	attcatcagg	cggcaagaa	tgtgaataaa
ggccggataa	aacttgtgct	tatTTTCTT	11760	tacggtcttt	aaaaaggccg	taatatccag
ctgaacggtc	tggttatagg	tacattgagc	11820	aactgactga	aatgcctcaa	aatgttcttt
acgatgccat	tggatataat	caacgggtgg	11880	atatccagt	attttttct	ccatTTTtagc
ttccttagct	cctgaaaatc	tcgataactc	11940	aaaaaaatacg	cccggtagt	atcttatttc
attatggtga	aagttggaac	ctttacgtg	12000	ccgatcaacg	tctcattttc	gccaaaagtt
ggcccagggc	ttcccggtat	caacagggac	12060	accaggattt	atttattctg	cgaagtgtac
ttccgtcaca	ggtatttatt	cgcgataagc	12120	tcatggagcg	gcgttaaccgt	cgcacagggaa

ggacagagaa agcgccgatc tggaaagtga
aggcggttgc cgccgctgct gctgacggtg
cgttccgccca ttcctatgct atgcacatgc
aaaggcctgat gggacataag tccatcagg
tggatgtggc tgcccgac cgggtgcagt
tgctgaaaca attatcctga gaataaatgc
gtggatatgc tgaaaaatgc tgtaaacag
acgaaacagt cggaaaatc tcccattatc
ctgttagcg tttataggaa gtagtgttct
gatttgaata tgccttcagg aacaatagaa
cgattatgt cagcaatgga cagaacaacc
cctttacag ccagtagtgc tcgcccgcagt
gaggaagcac cagggAACAG cacttatata
tcccttgggg ttatccactt atccacgggg
ttagatctc ttttttagag cgccttgcgt
gttgtgacaa attgccctt cagtgtgaca
acaaattgcc cttAACCTG tgacaaattg
tatccctgct tattgactct tttttatata
acatggatct gtcatggcgg aaacagcggt
gcgaatcgatc cagtcaaACG acctcactga
acgtatgctg tatctgttgc ttgaccagat
12180 cggacagaac ggtcaggacc tggattgggg
12240 tgacgttctc tggatccggtc acaccacata
12300 tgtatgccgg tataccgctg aaagttctgc
12360 caacggaaat ctacacgaag gttttgcgc
12420 ttgcgtatgcc ggagtctgat gcgggttgcga
12480 cttggccctt atatggaaat gtgaaactga
12540 agaagctggc tggatccac tgagaagcga
12600 gtagagatcc gcattattaa tctcaggagc
12660 gtcatgtatgc ctgcaagcgg taacgaaaac
12720 atcttcgtgc ggtgttacgt tgaagtggag
12780 taatgaacac agaaccatga tgtggctgt
12840 cgagcgacag ggcgaagccc tcgagtgagc
12900 ttctgcttac acacgatgcc tgaaaaaact
12960 atatTTTAT aattatTTT tttatagtt
13020 gcctttatcc atgctggttc tagagaaggt
13080 aatcaccctc aaatgacagt cctgtctgt
13140 ccctcagaag aagctgttt ttcacaaagt
13200 gtgtgacaaat ctaaaaactt gtcacacttc
13260 tatcaatcac aagaaacgta aaaatagccc
13320 ggcggcatat agtctctccc gggatcaaaa
13380 cagaaaaatct gatggcaccc tacaggaaca

tgacggtatac tgcgagatcc atgttgctaa
 ggaaggccagt aaggatatac ggcaggcatt
 ttatcgccct gaagaggatg ccggcgatga
 caaacgtgcg cacagtccat ccagaggct
 tcccttcttt atcgggttac agaaccgggt
 aatcaccaat ccgtatgcc a tgcgttata
 tggctcaggc atcgctctc tgaaaatcga
 aagttaccag cgtatgcctg acttccgcgc
 caacagcaga actccaatgc gcctctcata
 tcatatcgta tttccctcc gcgatatac
 tctgtcacag atttgagggt ggttcgac
 cacagttttg ctgttcctt cagcctgcac
 tttaggaag ccaaatttga gggcagttt
 tcatgtgacc tgatatcggtt ggttagttcg
 ttattactct gaattggcta tccgcgtgt
 atatttcttc ttgcgctgag cgtaagagct
 cggccagttcg ctcgctatgc tcggttacac
 actgaggtat gtgctttct tatctcctt
 gcggtttttt gatgactttg cgattttgtt
 aaaaaaacgc aaagcaatga ttaaaggatg
 cagtgcataa acgctggtca tgaaatgacg

13440 atatgctgaa atattcgat tgacctctgc
 13500 gaagagtttc gcggggaaagg aagtggttt
 13560 aaaaggctat gaatctttc cttggtttat
 13620 ttacagtgt a catatcaacc catatctcat
 13680 tacgcagttt cggcttagtg aaacaaaaga
 13740 cgaatccctg tgtcagtatc gtaagccgga
 13800 ctggatcata gagcgttacc agctgcctca
 13860 ccgccttcctg caggtctgtg ttaatgagat
 13920 cattgagaaa aagaaaggcc gccagacgac
 13980 ttccatgacg acaggatagt ctgagggtta
 14040 atttggttcg acctactgag ggttaatttgt
 14100 ggatttctc atacttttg aactgttaatt
 14160 tcacagtta tttcccttc tttcccttc
 14220 tcatcatgta tgagggttga ttatcacagt
 14280 tacctctacc tggagttttt cccacggtgg
 14340 atctgacaga acagttctc ttgccttc
 14400 ggctgcggcg agcgcttagtg ataataagt
 14460 tgttagtggtgc ctcttattttt aaacaacttt
 14520 gttgccttgc agtaaatttg aagatttaat
 14580 ttcagaatga aactcatgga aacacttaac
 14640 aaggctatcg ccattgcaca gtttaatgtat

gacagcccg aagcgaggaa aataaccgg 14700 cgctggagaa taggtgaagc agcggattta
gttgggttt cttctcaggc tatcagagat 14760 gccgagaaag cagggcgact accgcacccg
gatatggaaa ttcgaggacg gtttgagcaa 14820 cgtgttggtt atacaattga acaaattaat
catatgcgtg atgtgtttgg tacgcgattg 14880 cgacgtgctg aagacgtatt tccaccggtg
atcggggttg ctgccataa aggtggcgtt 14940 tacaaaacct cagttctgt tcatttgct
caggatctgg ctctgaaggg gctacgttt 15000 ttgctcgtgg aaggtaacga cccccaggga
acagcctcaa tgtatcacgg atgggtacca 15060 gatcttcata ttcatgcaga agacactctc
ctgccttct atcttggga aaaggacgat 15120 gtcacttatg caataaagcc cacttgcgtt
ccggggcttg acattattcc ttccgtctg 15180 gctctgcacc gtattgaaac tgagttaatg
ggcaaatttg atgaaggtaa actgcccacc 15240 gatccacacc ttagtgcctcg actggccatt
gaaactgttg ctcatgacta tgatgtcata 15300 gttattgaca gcgcgcctaa cctgggtatc
ggcacgatta atgtcgatg tgctgctgat 15360 gtgctgattt ttcccacgccc tgctgagttt
tttactaca cctccgcact gcagttttc 15420 gatatgcctc gtgatctgct caagaacgtt
gatcttaag ggtcgagcc tgatgtacgt 15480 attttgccta ccaaatacag caatagtaat
ggctctcagt ccccggttggat ggaggagcaa 15540 attcgggatg cctggggaaag catggttcta
aaaaatgttg tacgtgaaac ggatgaagtt 15600 ggttaaggc agatccggat gagaactgtt
tttgaacagg ccattgatca acgctttca 15660 actggtgccct ggagaaatgc tctttctatt
tggAACCTG tctgcaatga aattttcgat 15720 cgtctgatta aaccacgctg ggagattaga
taatgaagcg tgccctgtt attccaaaac 15780 atacgctcaa tactcaaccg gttgaagata
cttcgttatac gacaccagct gccccgatgg 15840 tggattcggtt aattgcgcgc gtaggagtaa
tggctcgccgg taatgccatt actttgcctg 15900 tatgtggtcg ggatgtgaag tttacttttgc

aagtgcctcg gggtgatagt gttgagaaga 15960 cctctcggtt atggtcaggt aatgaacgtg
accaggagct gcttaactgag gacgcactgg 16020 atgatctcat cccttcttt ctactgactg
gtcaacagac accggcggtc ggtcgaagag 16080 tatctggtgt catagaaatt gccgatggga
gtcgccgtcg taaagctgct gcacttaccg 16140 aaagtgatta tcgtgtctg gttggcgagc
tggatgatga gcagatggct gcattatcca 16200 gattggtaa cgattatcgc ccaacaagtg
cttatgaacg tggtcagcgt tatgcaagcc 16260 gattgcagaa tgaatttgcg ggaaatattt
ctgcgcgtggc tgatgcggaa aatatttcac 16320 gtaagattat tacccgctgt atcaacacccg
ccaaattgcc taaatcagtt gttgctctt 16380 ttctcaccc cggtaacta tctgcccgg
caggtgatgc acttcaaaaa gcctttacag 16440 ataaagagga attacttaag cagcaggcat
ctaaccctca tgagcagaaa aaagctgggg 16500 tgatatttga agctgaagaa gttatcactc
tttaacttc tgtgcttaaa acgtcatctg 16560 catcaagaac tagttaagc tcacgacatc
agtttgcctc tggagcgaca gtattgtata 16620 agggcgataa aatggtgctt aacctggaca
ggtctcggt tccaaactgag tgtatagaga 16680 aaattgagggc cattttaag gaacttgaaa
agccagcacc ctgatgcgac cacgttttag 16740 tctacgtta tctgtctta cttaatgtcc
tttgttacag gccagaaagc ataactggcc 16800 tgaatattct ctctggccccc actgttccac
ttgtatcgtc ggtctgataa tcagactggg 16860 accacggtcc cactcgtatc gtcggctctga
ttattagtct gggaccacgg tccccactcgt 16920 atcgtcggtc tgattattag tctgggacca
cggtcccact cgtatcggtc gtctgataat 16980 cagactggga ccacggtccc actcgtatcg
tcggtctgat tattagtctg ggaccatggt 17040 cccactcgta tcgtcggtct gattattagt
ctgggaccac ggtcccactc gtatcggtc 17100 tctgattatt agtctgaaac cacggtccc
ctcgatcgat cggtctgatt attagtctgg 17160 gaccacggtcc ccactcgtat cgtcggtctg

attattagtc tgggaccacg atcccactcg	17220 tttgtcggt ctgattatcg gtctgggacc
acggtcccac ttgtattgtc gatcagacta	17280 tcagcgtgag actacgattc catcaatgcc
tgtcaagggc aagtattgac atgtcgctgt	17340 aacctgtaga acggagtaac ctcggtgtgc
ggttgtatgc ctgctgtgga ttgctgctgt	17400 gtcctgctta tccacaacat tttgcgcacg
gttatgtgga caaaataacct gtttacccag	17460 gccgtgccgg cacgttaacc gggctgcac
cgtatgcaagt gtgtcgctgt cgacgagctc	17520 gcgagctcggt acatgaggtt gccccgtatt
cagtgtcgct gatttgtatt gtctgaagtt	17580 gttttacgt taagttgatg cagatcaatt
aatacgatac ctgcgtcata attgattatt	17640 tgacgtggtt tcatggcctc cacgcacgtt
gtgatatgtta gatgataatc attatcactt	17700 tacgggtcct ttccgggtat ccgacaggtt
acggggcgcc gacctcgccgg gtttgccta	17760 tttatgaaaaa tttccgggtt taaggcggtt
ccgttcttct tcgtcataaac ttaatgttt	17820 tatttaaaat accctctgaa aagaaaggaa
acgacaggtg ctgaaagcga gcttttggc	17880 ctctgtcggt tccttctct gttttgtcc
gtggaatgaa caatggaagt ccgagctcat	17940 cgctaataac ttctgtatagc atacattata
cgaagttata ttcgatgcgg cgctgaggc	18000 tgcctcgta agaaggtgtt gctgactcat
accaggcctg aatcgccccca tcatccagcc	18060 agaaagttag ggagccacgg ttgtatgagag
cttgggtgtta ggtggaccag ttgggtgatt	18120 tgaacttttgcgtt ccggccacg gaacggctcg
cgttgcggg aagatgcgtg atctgatcct	18180 tcaactcagc aaaagttcga tttattcaac
aaagccacgt gtctaaaaat ctctgtatgtt	18240 acattgcaca agataaaaat atatcatcat
gaacaataaa actgtctgct tacataaaca	18300 gtaatacaag ggggttatg agccatattc
aacgggaaac gtcttgctcg acgatgataa	18360 gctgtcaaac atgagaattt ggtcgtaat
atgctaaaac gcggcatacc ccgcgtattc	18420 ccactagttt atcgtacgaa ttccgtatgg

caatgaaaga	cggtgagctg	gtgatatgg	18480	atagtgttca	cccttgttac	accgtttcc
atgagcaaac	tgaaacgttt	tcatcgctct	18540	ggagtgaata	ccacgacgat	ttccggcagt
ttctacacat	atattcgcaa	gatgtggcgt	18600	gttacggta	aacacctggcc	tattcccta
aagggttat	tgagaatatg	ttttcgctct	18660	cagccaatcc	ctgggtgagt	ttcaccagtt
ttgatTTaaa	cgtggccaat	atggacaact	18720	tcttcgcccc	cgtttcacc	atggccaaat
attatacgca	aggcgacaag	gtgctgatgc	18780	cgctggcgat	tcaaggttcat	catgccgtt
gtgatggctt	ccatgtcgcc	agaatgctta	18840	atgaattaca	acagtaactgc	gatgagtggc
aggcggggc	gtaatTTTT	taaggcagtt	18900	attggtgccc	ttaaacgcct	ggttgctacg
cctgaataag	tgataataag	cggatgaatg	18960	gcagaaattc	gatgataagc	tgtcaaacat
gagaatttgt	cgacggcccg	ggcggctaga	19020	taatacgaact	cactatag	
19038 <210>	47 <211>	19038 <212>	DNA <213>	Artificial Sequence <220> <		
223> sequence for pBACT7/JVFLx/XhoI <400>	47	agaagtttat	ctgtgtgaac	ttcttggctt		
agtatcgttg	agaagaatcg	agagattagt	60	gcagttaaa	cagTTTTTA	gaacggaaga
taaccatgac	taaaaaacca	ggagggcccg	120	gtaaaaaccg	ggcttatcaat	atgctgaaac
gcggcctacc	ccgcgtattc	ccactagtgg	180	gagtgaagag	ggtagtaatg	agcttgg
acggcagagg	accagtacgt	ttcgtgctgg	240	ctcttatcac	gttcttcaag	tttacagcat
tagcccccac	caaggcgctt	ttaggccgat	300	ggaaagcagt	ggaaaagagt	gtggcaatga
aacatcttac	tagTTTCAA	cgagaacttg	360	gaacactcat	tgacgccgtg	aacaagcggg
gcagaaaagca	aaacaaaaga	ggagggaaatg	420	aaggctcaat	catgtggctc	gcgagttgg
cagtgtcat	agcttgtgt	ggagccatga	480	agtgtcaaa	tttccaaggg	aagctttga
tgaccattaa	caacacggac	attgcagacg	540	tcatcgat	tcctacactca	aaaggagaga

acagatgctg ggtccggca atcgatgtcg
aatgtcctaa gcttaccatg ggcaatgatc
aagaagtcta cgtccaatat ggacggtgca
ggtccgtgtc ggtccaaaca catggggaga
tggattcaac gaaagccaca cgatatctca
ctggctatgc ttccctggcg gcggtaacttg
gcgtggtgtt taccatcctc ctgctgttgg
gaatggcaa ccgtgacttc atagaaggag
tagaaggaga tagctgcttg acaatcatgg
tgattaacat cgaagccagc caacttgctg
tcactgacat ctgcacggtg gctcggtgcc
gagctgatag tagctatgtg tgcaaacaag
gtggactttt cgggaaggga agcattgaca
cgattggag aacaatccag ccagaaaaca
gaaccaccac ctggaaaaac catggaaatt
caaagttac agtaacaccc aatgctcctt
aagtacact ggactgtgaa ccaaggagtg
ccgtgggtc aaagtcattt ctggtccata
ggacgtcccc ttcgagcaca gcgtggagaa
cgcacgcccac aaaacagtcc gtgttgctc
cgctggcagg agccatcgtg gtggagtaact
600 gctacatgtg tgaggacact atcacgtacg
660 cagaggatgt ggattgctgg tgtgacaacc
720 cgcggaccag gcattccaag cgaagcagga
780 gttcactagt gaataaaaaa gaggcttggc
840 tgaaaactga gaactggatc ataaggaatc
900 gctggatgct tggcagtaac aatggtcaac
960 tcgctccggc ttacagttt aattgtctgg
1020 ccagtggagc cacttgggtg gacttagtgc
1080 caaacgacaa accaacattt gacgtccgca
1140 aggtcagaag ctactgctat catgcttcag
1200 ccacgactgg agaagcccac aacgagaagc
1260 gtttcaactga tcgtgggtgg ggcaacggat
1320 catgtcaaa atttcctgc accagtaagg
1380 tcaaatacga agtggcatt tttgtcatg
1440 attcagcgca agtagggcgc tcccaggcgg
1500 cgataaccct caaacttggt gactacggag
1560 gactgaacac tgaagcgtt tacgtcatga
1620 gggaatggtt tcatgacctc gctctcccct
1680 acagagaact cctcatggaa tttgaagagg
1740 ttgggtcaca ggaaggaggc ctccatcagg
1800 caagctcagt gaagttaca tcaggccacc

tgaatgtag gctgaaaatg gacaaactgg	1860 ctctgaaagg cacaacctat ggcattgtgt
cagaaaaatt ctgcgtcgcg aaaaatccgg	1920 cggacactgg ccacggaaaca gttgtcattg
aactctccta ttctgggagt. gatggcccct	1980 gcaaaattcc gattgtctcc gttgcgagcc
tcaatgacat gaccccggtt gggcggctgg	2040 tgacagtgaa ccccttcgtc gcgacttcca
gtgccaactc aaaggtgctg gtcgagatgg	2100 aaccccccctt cgagactcc tacatcgtag
ttggaagggg agacaagcag atcaaccacc	2160 attggcataa agctggaagc acgctggca
aggcttttc aacaactttg aagggagctc	2220 aaagactggc agcgttggc gacacagcct
gggactttgg ctctatttgg agggtcttca	2280 actccatagg aaaggccgtt caccaagtgt
tttgtggcgc tttcagaaca ctctttgggg	2340 gaatgtcttg gatcacacaa gggttaatgg
tgccctact actctggatg ggcattcaacg	2400 cacgagatcg atcaattgct ttggccttct
tggccacagg aggtgtgctc gtgttcttag	2460 cgaccaatgt gcatgctgac actggatgtg
ccattgacat cgcaagaaaa gagatgagat	2520 gcggaagtgg catttcgtg cacaacgacg
tggaagcctg ggtggatagg tataaatatt	2580 tgccagaaac gcccagatcc ctagcgaaga
tgtccacaa agcgcacaag gaaggcgtgt	2640 gcggagtcag atctgtcact agactggagc
accaaattgtg ggaagccgtg cgggacgaat	2700 tgaacgtcct gctcaaagag aatgcagtgg
acctcagtgt ggttgtgaac aagcccgtgg	2760 ggagatatcg ctcagccccaa aacgcctgt
ccatgacgca agagaagttt gaaatggct	2820 ggaaagcatg gggaaaaagc attctctttg
ccccggatt ggctaactcc acattttgtt	2880 tagatggacc tgagacaaag gaatgtcctg
atgagcacag agcctggaac agcatgcaaa	2940 tcgaagactt cggctttggt atcacatcaa
cccggtgtg gctgaagatt agagaggaaa	3000 gcactgacga gtgtgatgga gcgatcatag
gcacagctgt caaaggacat gtggcagttc	3060 atagtgactt gtcgtactgg attgagagtc

gctacaacga cacatggaaa cttgagaggg
ggccagagac acacactctt tggggagatg
ataccatagc cgAACCAAAA agcaagcaca
aggcaccttg ggacgaaaac ggcatagtct
tcaccatcac agaggattgt ggcaagagag
gaaagtgtat tactgactgg tgctgtcgca
cagaaaaatgg ctgctggtaC ggaatggaaa
tcgtcagatc acaggttgtat gcttcaatg
ttctggtgat gtttctggcc acccaggagg
ccattcctgc ggtttgggg gccctgcttg
atttggcgag gtatgtggtg cttagtcgctg
acgtcctgca cttgcTTT attgccgtt
acatgcttag cacgagatgg acgaaccaag
tcttcaatt ggcctcagta gatctgcaaa
ctatagcatg gatgattgtt cgagcgatca
cagtcttagc gcttctaact ccggaatga
tccttctcgat catagggatt tgctccctgc
agaaaggaggc tgtactttg ggcttagcgc
ccatagctgc tggactaatg gtctgcaacc
agtttctgtc ggcagtcgga ttgtatgtttg
ttgaatccat gtcaatacccc ttcatgctgg
3120 cagtcttgg agaggtcaaa tcttgcactt
3180 gtgttgagga aagtgaactc atcatcccgc
3240 atcggaggga agggtaaaaa acacaaaaacc
3300 tggacttga ttattgccca gggacaaaaag
3360 gcccTTcggt cagaaccact actgacagtg
3420 gttgctccct tccgccccta cgattccgga
3480 tcagacctgt taggcatgat gaaacaacac
3540 gtgaaatggt tgacccttt cagctggcc
3600 tccttcgca aaggtggacg. gccagattga
3660 tgctgatgct tggggcatc acttacactg
3720 ctgctttcgc agaggccaat aatggaggag
3780 ttaagatcca accagcttt ctgtatga
3840 aaaacgtggc cctggccta gggctgcct
3900 tcggagtcga cggaaatcctg aatgccccgc
3960 cttccccac aacctcctcc gtcaccatgc
4020 gggctctata cctagacact tacagaatca
4080 tgcaagagag gaaaaagacc atggcaaaaa
4140 tcacatccac tggatggttc tcgcccacca
4200 caaacaagaa gagagggtgg ccagctactg
4260 ccatcgtagg tggTTggcc gagttggata
4320 caggtcttat ggcagtgtcc tacgtatgt

caggaaaagc aacagatatg tggctcgaaac
ctgcaatcac aggaagcagt cggaggctgg
acttgattga tgatcccgcc gttccatgga
gcttagccgc cctcacgcct tggccatgg
taaaaacaac aaaaagaggg ggcgtgttt
aaggagacac cactacagga gtctaccgaa
aggctggcgt cgagtcgt tacgagaatg
ggcagccat tatgagtggaa gaaggaaaat
accgcatagc ttacggaggc ccatggagat
tgcaagtgtat cgtggtagaa ccggggaaagg
tggccggac ccccttcggg gaggttgggg
ccggctcacc cattctggat tccaatggag
agcttggcga tggctcatac gtcagcgcca
tcccagaagc ttacactcca aacatgttaa
accctggttc agggaaaacc agggaaaattc
agcgcctaag aacagctgtg ttggcaccga
cttgagagg gctccagta cgataccaaa
atgaaatagt ggatgtgtatg tgccacgcca
gagtgcccaa ctacaatctg ttgtcatgg
tagccgcacg aggatacatc gctaccaagg
tgacagcgcac cccgcctgga accacggatc
4380 gggccgcccga catcagctgg gagatggatg
4440 atgtgaaact ggatgtatgac ggagatttc
4500 aagtttgggt ctgcgcatg tcttgcattg
4560 ttcccgccgc tttcggttac tggctcaactt
4620 gggacacgccc atccccgaaa ctttgcttaa
4680 tcattggcttag agggattctt ggcacctacc
4740 ttttccacac actatggcac acaactagag
4800 tgacgccata ctggggtagc gtgaaagaag
4860 ttgatcgaaa atgaaatggaa acagatgacg
4920 ctgcggtaaa catccagaca aaaccaggag
4980 ctgttagcct ggattacccg cgaggaacat
5040 acatcatagg cctatacggc aatggagttg
5100 tcgtgcaggg tgaccgtcag gaggaaccag
5160 gaaagagaca gatgactgtg ttagatttgc
5220 tgccacaaat aattaaggat gcaatccagc
5280 cgcgggtggc agcagcagaa atggcagaag
5340 cttagcagt gcagagagag caccaaggaa
5400 ctctgaccca cagattgtatg tcaccgaaca
5460 atgaagctca tttcaccgac ccagccagca
5520 tgaaattagg agaggcagca gccatctta
5580 ctttcccgaa ctcaaattgcc ccaatccatg

atttacaaga tgagatacca gacagggcat
atgcggtaa aaccgtgtgg tttgtggcga
gcctccaaag agcggaaaa aaggtcatcc
acccaaaatg taagaatgga gactgggatt
gggctaactt cggtgcgagc agggtcatcg
tagaagaggg agaaggcaga gtcatcctcg
cagctcaacg gagggcaga gtaggcagaa
atggagggc taccagtcaa gatgacagta
tgttagacaa catacacatg cccaatggc
aaaaggctt cacaatggat ggcgaatacc
tagagctgct taggacggct gaccccccgg
gcattcagta caccgacaga aagtggtgg
aggacaacac cgaggttagag atagtcaccc
gatggcttga tgcaagagta tacgcagatc
cagcagggaaa gagatcggcc gtttagctca
tcatggggaaa gacgcgggaa gctttagaca
gtgggaaggc acaccgaatg gctctcgaag
ttattttgc catcaactgta atgacaggag
gtataggaa gatgggtctt ggagctctag
cggcagaggt tccttggaaacc aaaatagcag
tggttctcat cccagaaccg gaaaaacaga
5640 ggagcagtgg atacgaatgg atcacagaat
5700 gcgtaaaaat gggaaatgag attgcaatgt
5760 aactcaaccg caagtccat gacacagaat
5820 ttgtcattac caccgacatc tctgaaatgg
5880 actgcagaaa gagcgtgaaa cccaccatct
5940 gaaacccatc tccataacc agtgctagcg
6000 accccaacca agtggagat gaataccatt
6060 acctagccca ttggacagag gcaaagatca
6120 tggtggccca gctctatgga ccagagaggg
6180 gtctcagggg tgaagaaaag aaaaacttct
6240 tgtggctggc ctataaggtg gcgtccatg
6300 ttgatggcc ggcacgaat gccatactgg
6360 ggtatgggtga gagaagatc ctcaagccga
6420 accaagccct caagtggttc aaagactttg
6480 tagaggtgct cggtcgcatg cctgagcatt
6540 ccatgtactt ggtcgcaacg gctgagaag
6600 agttgccgga tgcactggaa accatcacac
6660 gattttcct actaatgatg cagcgaaagg
6720 tgctcacgct agctacccctc ttccctgtgg
6780 ggaccctgct gatcgccctg ctgctgatgg
6840 ggtcacagac agacaaccaa ctagcggtgt

ttctcatctg cgtcttgacc gtggttggag
aaaaaaaccaa agcagatctc aagagcatgt
ctggattgcc aagcatggca ctggacactgc
ggagcacagt tgtgctaacc cctcttctga
catcgctagc ctcaattaac tcacaagctg
cttcaccga tctagacactg accgttggcc
ccctcacaac gttttgaca gccatggttc
ctggatggca agcagaagca ctcaggctg
agaatgccgt tggtgacgga atggtcgcca
ctctgatgca aaagaaaatgc ggacaggtgc
tcgtcaaccc taatgtcacc actgtgagag
tcaccttgtg ggataatgga gccagtgccg
gccatgtcat gcgaggttagc tacctggctg
acgctgacaa gccctccttg aaaagggaa
ggaaggaaaa actaaatgcc atgagcagag
taatcgaggt ggaccgcact gaagcacgca
gacatccggc ttgcgcaggc tcagcaaaac
cgccaatagg aaaagtctt gatctagggt
caaccctgaa gaaggtccag gaagtcagag
agccgatgct catgcagagc tacggctgga
tggttctacaa accttcagag cctagtgaca
6900 tggtggcagc aaacgagtagc gggatgctag
6960 ttggcggaaa gacacaggca tcaggactga
7020 gtccagccac agcctggca ctgtatgggg
7080 agcacctgat cacgtcgaa tatgtcacca
7140 gctcattatt cgtcttgcca cgaggcgtgc
7200 tcgtcttcct tggctgctgg ggtcaaatca
7260 tggcgacact tcactatggg tacatgctcc
7320 cccagagaag gacggcggct ggaataatga
7380 ctgatgtgcc tgaactggaa aggactactc
7440 tcctcatagg ggtgagcgtg gcagcgttc
7500 aagcaggggt gtttgtacg gcggctacgc
7560 tttggaattc caccacagcc acgggactct
7620 gaggcttat tgcttgact cttatcaaga
7680 ggcctgggg caggacgcta ggggagcagt
7740 aagagtttt taaataccgg agagaggcca
7800 gggctagacg taaaataac atagtggag
7860 tccgttggct cgtggagaaa ggattcgtct
7920 gtggcgtgg aggatggagc tactacgcag
7980 gatacacgaa aggtggggcg ggacatgaag
8040 acctggtctc cttgaagagt ggagtggatg
8100 ccctgttctg tgacataggg gaatcctccc

caagtccaga agtggaaagaa caacgcacac
tgcatcgagg acccagagag ttctgcataa
tagaaaaaat ggaagttctg cagcgccgct
cccgaaactc caatcacgag atgtattgg
ctgtAACAT gaccagccag gtactactgg
caaagtatga ggaagatgtc aacctaggt
ttcatagcaa tcaggagaaa atcaagaaga
caacgtggca caaagaccct gaacacccat
aggtgaaggc tactggctca gccagctctc
aaccttggga cgccattgcc aacgtcacca
gacagcaaag agtttcaag gagaaagtt
tcaaggaagt gctcaacgag accaccaact
gaccccgctt gtgcaccaag gaagaattta
gagcagtgtt tgctgaacag aatcaatgga
ggtttggga gatggtaat gaagagaggg
gtatctacaa catgatggga aaaagagaga
ggagcagggc cattgggttc atgtggcttg
ggttcctgaa tgaagaccac tggctgagcc
caggcgtcca aaagtggga tacatcctcc
tgtacgctga tgacaccgccc gggtgggaca
aagctaaggt gctggagctc cttagatggtg
8160 tacgcgtcct agagatgaca tccgattgg
8220 aagttctctg cccttacatg cccaaaggta
8280 tcggaggtgg gctagttacgt ctccccctgt
8340 ttagtggagc cgctggcaat gtgggtgcacg
8400 ggcgaatgga tcgcacagtg tggagagggc
8460 gcggacaacaag agccgtggga aagggagaag
8520 gaatccagaa gcttaagaa gaattcgcca
8580 accgcacttg gacataaccac ggaagctatg
8640 tcgtcaacgg agtggtaag ctcatgagta
8700 ccatggccat gactgacacc acccctttg
8760 acacgaaagc tcctgagcca ccagctggag
8820 ggctgtgggc ccacttgtca cggaaaaaaa
8880 taaagaaagt caatagcaac gcggctttg
8940 gcacggcgcg tgaggctgtg gacgaccgc
9000 aaaaccatct gcgaggagag tgtcacacat
9060 agaagcctgg agagtttggaa aaagctaaag
9120 gagcacggta tcttgagttt gaagctttgg
9180 gagagaattc aggaggtggaa gttagaaggct
9240 gtgacatagc aggaaagcaa ggagggaaaa
9300 cttagaattac tagaactgat ttagaaaaatg
9360 aacaccgcat gctgccccgg gccataattg

aactgactta caggcacaaa gtggtcaagg
tgatggacgt gatatcaaga gaagaccaaa
tcaacacttt cacgaacatc gctgtccagc
ttgggccaca acacttgaa cagctgccta
tcttgagaa tggagaggag agagtgacca
tcaagccgct ggacgacaga ttgcacacgg
ttagaaaaga catccagggaa tggaagcctt
ccttctgctc taaccacttt caggagattg
cgtgcagagg acaggatgag ctgataggca
atgtgaagga cacagcttgc ctggcaaaag
tccatcgtag ggacctgcgt ctcatggcaa
gggtgcccac aggaggaca tcctggtaa
aagacatgct gcaggtctgg aacagagtct
agactccgt cacaagctgg acagacgttc
gtggcagcct catcgaaacg cggtccagag
taaaccaggt tagagctgtc attggaaag
ggagatacga agacgtttg atccaggaag
aatgtaaata atgtgaatga gaaaatgcat
accggatact ggttagacgg tgctgcctgc
atctgacaac agaaagttag ariegccctca
tgaaagttga aagaccaacg tcaggccacg
9420 tcatgagacc tgcagcagaa ggaaagaccg
9480 gggggagtgg acaggtggtc acttatgctc
9540 tcgttaggct gatggaggct gagggggtca
9600 ggaaaaacaa gatagctgtc aggacttggc
9660 gnatggcgat cagcggagac gactgtgtcg
9720 ccctccattt cctcaacgca atgtcaaagg
9780 cgcacggctg gcacgattgg cagcaagttc
9840 tnatgaaaga cggaaggagt atagttgtcc
9900 gggctcgcat ctctccagga gctggatgga
9960 catatgcaca gatgtggcta ctccataact
10020 atgcgatttg ctacgactg ccagtggatt
10080 tacactcgaa aggagagtgg atgaccacgg
10140 ggattgaaga aaatgaatgg atgatggata
10200 cgtatgtggg aaagcgtgag gacatctggt
10260 caacctggc tgagaacatc tatgcggcga
10320 aaaattatgt tgactacatg acctcactca
10380 acagggtcat ctagtgtgac ttaaggtaga
10440 gtatatggag tcaggccagc aaaagctgcc
10500 gtctcagtcc caggaggact gggtaacaa
10560 gaaccgtctc ggaagtaggt ccctgctcac
10620 aatttgtgcc actccgctgg ggagtgcggc

ctgcgcagcc ccaggaggac tgggttacca
cgtctaggat gcaatagacg aggtgttaagg
aacaacatgc ggcccaagcc ccctcgaaac
aggagacccc gcatttgcataa caaacagcat
tctgctctat ctcaacatca gctacttaggc
aggaagaaca caggaatctcg agcggccg
agagggattt gttccctagg cctaattatt
cctttctaa ttctcgata ctatagttag
caattctcat gtttgacagc ttatcatcg
tattcaggcg tagcaaccag gcgttaagg
ccgcctgc cactcatcg agtactgttgc
gccatcacaa acggcatgat gaacctgaat
cgtataatat ttgcccattgg tgaaaacgg
taaatcaaaa ctggtgaaac tcacccaggg
aaaccctta gggaaatagg ccaggttttc
gtgtagaaac tgccggaaat cgtcggttgc
ttgctcatgg aaaacgggtgt aacaagggtg
tttcatcgcc atacggaaatt ccggatgagc
ggccggataa aacttgttgc tatTTTCTT
ctgaacggtc tggttatagg tacattgagc
acgatgcat tggatataat caacgggttgc
10680 aagccgttga ggccccacg gcccaagc
10740 actagagggtt agaggagacc ccgtggaaac
10800 tgttagaggag gtggaaggac tagaggttag
10860 attgacacctt ggaaatagac tgggagatct
10920 acagagcgcc gaagtatgtt gctgggttg
10980 gaccgactag ccttttgc gcctcgctg
11040 atttttaattt gccaatacg tatacgagt
11100 tcgtattatc tagccgcccggccgtcgac
11160 atttctgcca ttcatccgct tattatcact
11220 gcaccaataa ctgccttaaa aaaattacgc
11280 taattcatta agcattctgc cgacatggaa
11340 cgccagcgcc atcagcacct tgcgccttgc
11400 ggcgaagaag ttgtccatat tggccacgtt
11460 attggctgag acgaaaaaca tattctcaat
11520 accgtaacac gccacatctt gcgaatata
11580 ttcatccag agcgatgaaa acgtttcag
11640 aacactatcc catatcacca gctcaccgtc
11700 attcatcagg cggcaagaa tgtgaataaa
11760 tacggtctt aaaaaggccg taatatccag
11820 aactgactga aatgcctcaa aatgttctt
11880 atatccagtg attttttctt ccatttttagc

ttccttagct cctgaaaatc tcgataactc	11940 aaaaaatacg cccggtagtg atcttatttc
attatggtga aagttggaac ctcttacgtg	12000 ccgatcaacg tctcatttc gccaaaagtt
ggcccagggc ttcccggtat caacagggac	12060 accaggattt atttattctg cgaagtgtac
ttccgtcaca ggtatttatt cgcgataagc	12120 tcatggagcg gcgttaaccgt cgcacaggaa
ggacagagaa agcgccgatc tggaaagtga	12180 cggacagaac ggtcaggacc tggattgggg
aggcggttgc cgccgctgct gctgacggtg	12240 tgacgttctc tggccggc acaccacata
cgttccgcca ttccatatgcg atgcacatgc	12300 tgtatgccgg tataccgctg aaagttctgc
aaagcctgat gggacataag tccatcagt	12360 caacggaagt ctacacgaag gttttgcgc
tggatgtggc tgcccgac cgggtgcagt	12420 ttgcgatgcc ggagtctgat gcgggtgcga
tgctgaaaca attatcctga gaataaatgc	12480 cttggccccc atatggaaat gtggaactga
gtggatatgc tgaaaaatgc tggatcgttgc	12540 agaagctggc tggatccac tgagaagcga
acgaaacagt cggaaaaatc tcccattatc	12600 gtagagatcc gcattattaa tctcaggagc
ctgtgtagcg tttataggaa gtagtgttct	12660 gtcatgatgc ctgcaagcgg taacgaaaac
gatttgaata tgccttcagg aacaatagaa	12720 atcttcgtgc ggtgttacgt tgaagtggag
cggattatgt cagcaatgga cagaacaacc	12780 taatgaacac agaaccatga tgggtctgt
cctttacag ccagtagtgc tcggccgcagt	12840 cgagcgacag ggcgaagccc tcgagtgagc
gaggaagcac caggaaacag cacttatata	12900 ttctgcttac acacgatgcc taaaaaaact
tcccttgggg ttatccactt atccacgggg	12960 atattttat aatttttt tttatagttt
tttagatctc ttttttagag cgcctgttag	13020 gcctttatcc atgctggttc tagagaaggt
gttgtgacaa attgccctt cagtgtgaca	13080 aatcaccctc aaatgacagt cctgtctgt
acaaattgcc cttaaccctg tgacaaattg	13140 ccctcagaag aagctgttt ttcacaaagt

tatccctgct tattgactct ttttattta	13200 gtgtgacaat ctaaaaactt gtcacacttc
acatggatct gtcatggcgg aaacagcggt	13260 tatcaatcac aagaaacgta aaaatagccc
gcgaatcgtc cagtcaaacg acctcactga	13320 ggcggcatat agtctctccc gggatcaaaa
acgtatgctg tatctgttcg ttgaccagat	13380 cagaaaatct gatggcaccc tacaggaaca
tgacggtatac tgcgagatcc atgttgctaa	13440 atatgctgaa atattcggat tgacacctgc
ggaagccagt aaggatatac ggcaggcatt	13500 gaagagttc gcggggaagg aagtggttt
ttatcgccct gaagaggatg ccggcgatga	13560 aaaaggctat gaatctttc ctgggttat
caaacgtgcg cacagtccat ccagaggcgt	13620 ttacagtgta catatcaacc catatctcat
tcccttcttt atcgggttac agaaccggtt	13680 tacgcagttt cggcttagtg aaacaaaaga
aatcaccaat ccgtatgcc a tgcgttata	13740 cgaatccctg tgtcagtatc gtaagccgga
tggctcaggc atcgtctctc tgaaaatcga	13800 ctggatcata gagcgttacc agctgcctca
aagttaccag cgtatgcctg acttccgccg	13860 ccgcittcctg caggtctgtg ttaatgagat
caacagcaga actccaatgc gcctctcata	13920 cattgagaaa aagaaaggcc gccagacgac
tcatatcgta tttccttcc gcgatatcac	13980 ttccatgacg acaggatagt ctgagggtta
tctgtcacag atttgagggt ggttcgtcac	14040 atttgttctg acctactgag ggtaatttgt
cacagttttg ctgtttcctt cagcctgcat	14100 ggattttctc atacttttg aactgtaatt
tttaaggaag ccaaatttga gggcagtttgc	14160 tcacagtta tttccttctc tttcccttcg
tcatgtgacc tgatatcggtt ggttagttcg	14220 tcatcattga tgagggttga ttatcacagt
ttattactct gaattggcta tccgcgtgt	14280 tacctctacc tggagttttt cccacggtgg
atatttcttc ttgcgcgtgag cgtaagagct	14340 atctgacaga acagtttttc tttgcttcct
cggcagttcg ctgcgtatgc tcggttacac	14400 ggctgcggcgc agcgcttagtg ataataagtg

actgaggat gtgctttt tatcccttt
gcggttttt gatgacttt cgattttgtt
aaaaaaaaacgc aaagcaatga ttaaaggatg
cagtgcataa acgctggta tgaaatgacg
gacagccccgg aagcgaggaa aataaccgg
gttgggttt ctctcaggg tatcagagat
gatatggaaa ttcgaggacg gtttgagcaa
catatgcgtg atgtgttgg tacgcgattg
atcggggttg ctgcccataa aggtggcggt
caggatctgg ctctgaaggg gctacgttt
acagcctcaa tgtatcacgg atgggtacca
ctgcctttct atcttgggaa aaaggacgat
ccggggcttg acattattcc ttccctgtctg
ggcaaatttg atgaaggtaa actgcccacc
gaaactgttg ctcatgacta tgatgtcata
ggcacgatta atgtcgatg tgctgctgat
tttgactaca cctccgcact gcagttttc
gatcttaaag gttcgagcc tgatgtacgt
ggctctcagt ccccggtggat ggaggagcaa
aaaaatgttg tacgtgaaac ggatgaagtt
tttgaacagg ccattgatca acgctttca
14460 tgttagtggtt ctcttatttt aaacaacttt
14520 gttgctttgc agtaaattgc aagatttaat
14580 ttcaaatga aactcatgga aacactaac
14640 aaggctatcg ccattgcaca gtttatgat
14700 cgctggagaa taggtgaagc agcggattta
14760 gccgagaaag cagggcgact accgcacccg
14820 cgttgttttt atacaattga acaaattaaat
14880 cgacgtgctg aagacgtatt tccaccggtg
14940 tacaaaacct cagttctgt tcattttgt
15000 ttgctcgtgg aaggtaacga cccccaggaa
15060 gatttcata ttcatgcaga agacactctc
15120 gtcacttatg caataaagcc cacttgctgg
15180 gctctgcacc gtattgaaac tgagttaatg
15240 gatccacacc tgatgctccg actggccatt
15300 gttattgaca gcgcgcctaa cctgggtatc
15360 gtgctgattt ttcccacgccc tgctgagtt
15420 gatatgcttc gtgatctgct caagaacgtt
15480 attttgctta ccaaatacag caatagtaat
15540 attcgggatg cctggggaaag catggttct
15600 ggttaaaggtc agatccggat gagaactgtt
15660 actgggtgcct ggagaaatgc tctttctatt

tggAACCTG TCTGCAATGA AATTTCGAT
TAATGAAGCG TGCGCCTGTT ATTCCAAAAC
CTTCGTTATC GACACCAGCT GCCCCGATGG
TGGCTCGCGG TAATGCCATT ACTTTGCCTG
AAGTGCTCCG GGGTGATAGT GTTGAGAAGA
ACCAGGAGCT GCTTACTGAG GACGCACTGG
GTCAACAGAC ACCGGCGTTC GGTGAGAAGAG
GTCGCCGTG TAAAGCTGCT GCACCTACCG
TGGATGATGA GCAGATGGCT GCATTATCCA
CTTATGAACG TGGTCAGCGT TATGCAAGCC
CTGCGCTGGC TGAATCGGAA AATATTCAC
CCAATTGCC TAAATCAGTT GTTGCTCTT
CAGGTGATGC ACTTCAAAAAA GCTTACAG
CTAACCTCA TGAGCAGAAA AAAGCTGGGG
TTTAACCTC TGTGCTTAAA ACGTCACTG
AGTTGCTCC TGGAGCGACA GTATTGTATA
GGTCTCGTGT TCCAACGTGAG TGTATAGAGA
AGCCAGCACC CTGATGCGAC CACGTTTAG
TTTGTACAG GCCAGAAAGC ATAACGGCC
TTGTATCGTC GGTCTGATAA TCAGACTGGG
TTTATTAGTCT GGGACCACGG TCCCACCTGCT

15720 CGTCTGATTA AACCACGCTG GGAGATTAGA
15780 ATACGCTCAA TACTCAACCG GTTGAAGATA
15840 TGGATTGCTT AATTGCGCGC GTAGGAGTAA
15900 TATGTGGTCG GGATGTGAAG TTTACTCTT
15960 CCTCTCGGGT ATGGTCAGGT AATGAACGTG
16020 ATGATCTCAT CCCTTCTTT CTACTGACTG
16080 TATCTGGTGT CATAGAAATT GCCGATGGGA
16140 AAAGTGATTA TCCTGTTCTG GTTGGCGAGC
16200 GATTGGTAA CGATTATCGC CCAACAAGTG
16260 GATTGCAAGAA TGAATTGCT GGAAATATT
16320 GTAAGATTAT TACCCGCTGT ATCAACACCG
16380 TTTCTCACCC CGGTGAACTA TCTGCCCGT
16440 ATAAAGAGGA ATTACTTAAG CAGCAGGCA
16500 TGATATTGA AGCTGAAGAA GTTATCACTC
16560 CATCAAGAAC TAGTTAACG TCACGACATC
16620 AGGGCGATAA AATGGTGCTT AACCTGGACA
16680 AAATTGAGGC CATTCTTAAG GAACCTGAAA
16740 TCTACGTTA TCTGTCTTAA CTAAATGTCC
16800 TGAATATTCT CTCTGGGCC ACTGTTCCAC
16860 ACCACGGTCC CACTCGTATC GTCGGTCTGA
16920 ATCGTCGGTC TGATTATTAG TCTGGGACCA

cggtcccact cgtatcgctg gtctgataat	16980 cagactggga ccacggtccc actcgatcg
tcggtctgat tattagtctg ggaccatggt	17040 cccactcgta tcgtcggtct gattattagt
ctgggaccac ggtcccactc gtatcgctgg	17100 tctgattatt agtctggaac cacggtccc
ctcgatcgat cggtctgatt attagtctgg	17160 gaccacggtc ccactcgat cgtcggtctg
attattagtc tgggaccacg atcccactcg	17220 tgggtcggt ctgattatcg gtctgggacc
acggtcccac ttgtattgtc gatcagacta	17280 tcagcgtgag actacgattc catcaatgcc
tgtcaagggc aagtattgac atgtcgctgt	17340 aacctgtaga acggagtaac ctcggtgtgc
ggttgtatgc ctgctgtgga ttgctgctgt	17400 gtcctgctta tccacaacat tttgcgcacg
gttatgtgga caaaataacct ggttacccag	17460 gccgtgccgg cacgttaacc gggctgcattc
cgtatcgatgt gtgtcgctgt cgacgagctc	17520 gcgagctcggt acatgagggtt gccccgtatt
cagtgtcgct gatttgatt gtctgaagtt	17580 gttttacgt taagttgatg cagatcaatt
aatacgatac ctgcgtcata attgattatt	17640 tgacgtgggt tgatggcctc cacgcacgtt
gtgatatgtat gatgataatc attatcatt	17700 tacgggtcct ttccgggtat ccgacaggtt
acggggcggc gacctcgccg gtttcgcta	17760 tttatgaaaa tttccgggtt taaggcggtt
ccgttcttct tcgtcataac ttaatgttt	17820 tatttaaat accctctgaa aagaaaggaa
acgacaggtg ctgaaagcga gcttttggc	17880 ctctgtcggt tccttctct gttttgtcc
gtggaatgaa caatgaaagt ccgagctcat	17940 cgctaataac ttctatagc atacattata
cgaagttata ttcgatgcgg cgctgagggtc	18000 tgcctcgta agaagggttt gctgactcat
accaggcctg aatcgccccca tcatccagcc	18060 agaaagttag ggagccacgg ttgtatgagag
cttggatgtat ggtggaccag ttggatgtt	18120 tgaacttttgc cttggccacg gaacggtctg
cgttgcggg aagatgcgtg atctgatcct	18180 tcaactcagc aaaagttcgat tttattcaac

aaagccacgt gtctcaaaat ctctgatgtt	18240 acattgcaca agataaaaat atatcatcat
gaacaataaa actgtctgct tacataaaca	18300 gtaatacaag ggggtttatg agccatattc
aacgggaaac gtcttgctcg acgatgataa	18360 gctgtcaaac atgagaattt ggtcgtaat
atgctaaaac gcggcataacc ccgcgtattc	18420 ccactagttt atcgtacgaa ttccgtatgg
caatgaaaga cggtgagctg gtgatatggg	18480 atagtgttca cccttggttac accgtttcc
atgagcaaac tgaaacgttt tcatcgctct	18540 ggagtgaata ccacgacgat ttccggcagt
ttctacacat atattcgcaa gatgtggcgt	18600 gttacggtga aaacctggcc tatttccta
aagggtttat tgagaatatg ttttcgtct	18660 cagccaatcc ctgggtgagt ttcaccagtt
ttgatttaaa cgtggccaat atggacaact	18720 tcttcgcccc cgtttcacc atggcaaat
attatacgca aggcgacaag gtgctgatgc	18780 cgctggcgat tcaggttcat catgccgtt
gtgatggctt ccatgtcgcc agaatgctta	18840 atgaattaca acagttactgc gatgagtggc
agggcggggc gtaattttt taaggcagtt	18900 attggtgccc ttaaacgcct gggtgctacg
cctgaataag tgataataag cggatgaatg	18960 gcagaaattc gatgataaagc tgtcaaacat
gagaatttgtt cgacggcccg ggcggctaga	19020 taatacgact cactatag
19038 <210> 48 <211> 19040 <212> DNA <213> Artificial Sequence <220> <	
223> sequence for pBACT7/JVFLx/XbaI <400> 48 agaagtttat ctgtgtgaac ttcttggctt	
agtatcggtt agaagaatcg agagattagt	60 gcagttaaa cagttttta gaacggaaga
taaccatgac taaaaaacca ggagggcccg	120 gtaaaaaccc ggctatcaat atgctgaaac
gcggcctacc ccgcgtattc ccactagttgg	180 gagtgaagag ggttagtaatg agcttgg
acggcagagg accagtagt ttcgtgctgg	240 ctcttatcac gttcttcaag tttacagcat
tagcccccac caaggcgctt ttaggcccgt	300 ggaaagcagt ggaaaagagt gtggcaatga

aacatcttac tagttcaaa cgagaacttg
gcagaaaagca aaacaaaaga ggaggaaatg
cagttgtcat agcttgtgtta ggagccatga
tgaccattaa caacacggac attgcagacg
acagatgctg ggtccggca atcgatgtcg
aatgtcctaa gcttaccatg ggcaatgatc
aagaagtcta cgtccatat ggacggtgca
ggtccgtgtc ggtccaaaca catggggaga
tggattcaac gaaagccaca cgatatctca
ctggctatgc tttcctggcg gcggacttg
gcgtgggtt taccatcctc ctgctgttg
gaatggcaa ccgtgacttc atagaaggag
tagaaggaga tagctgcttg acaatcatgg
tgattaacat cgaagccagc caacttgctg
tcactgacat ctcgacggtg gctcggtgcc
gagctgatag tagctatgtg tgcaaacaag
gtggactttt cgggaaggga agcattgaca
cgattggag aacaatccag ccagaaaaca
gaaccaccac ctcggaaaac catggaaatt
caaagttac agtaacaccc aatgctcctt
aagtcacact ggactgtgaa ccaaggagtg
360 gaacactcat tgacgccgtg aacaagcggg
420 aaggctcaat catgtggctc gcgagttgg
480 agttgtcaaa tttccaaggg aagctttga
540 tcacgtgtat tcctaccta aaaggagaga
600 gctacatgtg tgaggacact atcacgtacg
660 cagaggatgt ggattgctgg tgtgacaacc
720 cgccggaccag gcattccaag cgaagcagga
780 gttcactagt gaataaaaaa gaggcttggc
840 tggaaactga gaactggatc ataaggaatc
900 gctggatgct tggcagtaac aatggtcaac
960 tcgctccggc ttacagttt aattgtctgg
1020 ccagtggagc cacttgggtg gacttagtgc
1080 caaacgacaa accaacattg gacgtccgca
1140 aggtcagaag ctactgctat catgcttcag
1200 ccacgactgg agaagcccac aacgagaagc
1260 gtttcaactga tcgtgggtgg ggcaacggat
1320 catgtgcaaa attctcctgc accagtaagg
1380 tcaaatacga agtggcatt tttgtcatg
1440 attcagcgca agtagggcgc tcccaggcgg
1500 cgataaccct caaacttggt gactacggag
1560 gactgaacac tgaagcgitt tacgtcatga

ccgtgggtc aaagtcat ttt ctggccata
 ggacgtcccc ttcgagcaca gcgtggagaa
 cgcacgccac aaaacagtcc gttgttgctc
 cgctggcagg agccatcgtg gtggagtact
 tgaaatgtag gctgaaaatg gacaaactgg
 cagaaaaatt ctcgttcgca aaaaatccgg
 aactctccta ttctggagt gatggccct
 tcaatgacat gaccccggtt gggcggctgg
 gtgc当地 actc aaaggtgctg gtcgagatgg
 ttggaagggg agacaagcag atcaaccacc
 aggcttttc aacaactttg aagggagctc
 gggactttgg ctctatttga ggggtcttca
 ttgggtggcgc tttcagaaca ctctttgggg
 gtgc当地 tactctggatg ggc当地 caacg
 tggccacagg aggtgtgctc gtgttcttag
 ccattgacat cgcaagaaaa gagatgagat
 tggaaagcctg ggtggatagg tataaatatt
 tc当地 tccacaa agcgcacaag gaaggcgtgt
 accaaatgtg ggaagccgtg cgggacgaat
 acctcagttgt ggttgtgaac aagccgtgg
 ccatgacgca agagaagttt gaaatgggt
 1620 gggaaatggtt tcatgaccc tc gctctccc
 1680 acagagaact cctcatggaa tttgaagagg
 1740 ttgggtcaca ggaaggaggc ctccatcagg
 1800 caagctcagt gaagtttaaca tcaggccacc
 1860 ctctgaaagg cacaacctat ggc当地 gtgt
 1920 cggacactgg ccacggaaca gttgtcattt
 1980 gcaaaattcc gattgtctcc gttgc当地 gaccc
 2040 tgacagtgaa ccccttcgtc gcgacttcca
 2100 aaccccccctt cggagactcc tacatcgttag
 2160 attggcataa agctggaagc acgctggca
 2220 aaagactggc agcgttgggc gacacagcct
 2280 actccatagg aaaggccgtt caccaagtgt
 2340 gaatgtcttg gatcacacaa gggtaatgg
 2400 cacgagatcg atcaatttgc ttggcccttct
 2460 cgaccaatgt gcatgctgac actggatgt
 2520 gcggaagtgg catcttcgtc cacaacgacg
 2580 tgccagaaac gccccagatcc ctagcgaaga
 2640 gc当地 gagatcg atctgtcact agactggagc
 2700 tgaacgtcct gctcaaagag aatgcagtgg
 2760 ggagatatcg ct当地 cccca aaacgc当地
 2820 ggaaagcatg gggaaaaagc attctctttg

cccggaatt ggctaactcc acatttgtg
atgagcacag agcctggaac agcatgcaa
ccctgtgtg gctgaagatt agagaggaaa
gcacagctgt caaaggacat gtggcagttc
gctacaacga cacatggaaa cttgagaggg
ggccagagac acacacttt tggggagatg
ataccatagc cggaccaaaa agcaagcaca
agggacattg ggacgaaaac ggcatagtct
tcaccatcac agaggattgt ggcaagagag
gaaagtgtat tactgactgg tgctgtcgca
cagaaaatgg ctgctggtag ggaatggaaa
tcgtcagatc acaggtttagt gctttcaatg
ttctggtagt gtttctggcc acccaggagg
ccattcctgc gttttgggg gccctgcttg
atttggcgag gtatgtggtg ctatcgctg
acgtcctgca ctttgcttg attgccgtt
acatgcttag cacgagatgg acgaaccaag
tctttcaatt ggcctcagta gatctgcaa
ctatagcatg gatgatttgt cgagcgatca
cagtcttagc gtttctaact ccggaaatga
tccttctcgat catagggatt tgctccctgc
2880 tagatggacc tgagacaaag gaatgtcctg
2940 tcgaagactt cggcttgggt atcacatcaa
3000 gcaatgtacga gtgtgatgga gcgatcatag
3060 atagtgactt gtcgtactgg attgagagtc
3120 cagtcttgg agaggtcaaa tcttgactt
3180 gtgttggaga aagtgaactc atcatccgc
3240 atcggaggaa aggttacaaa acacaaaacc
3300 tggactttga ttattgccca gggacaaaag
3360 gcccttcgggt cagaaccact actgacagtg
3420 gttgctccct tccgccccta cgattccgga
3480 tcagacctgt taggcatgat gaaacaacac
3540 gtgaaatggt tgacccttt cagctggcc
3600 tccttcgcaa gaggtggacg gccagattga
3660 tgctgatgct tggggcatc acttacactg
3720 ctgcttcgc agaggccaat aatggaggag
3780 ttaagatcca accagcttt ctatgtatga
3840 aaaacgtggc cctggccta ggggctgcct
3900 tcggagtcca cggaaatcctg aatgccggcc
3960 cttccccac aacccctcc gtcaccatgc
4020 gggctctata cctagacact tacagaatca
4080 tgcaagagag gaaaaagacc atggcaaaaa

agaaaaggagc tgtactcttgc ggcttagcgcc
ccatagctgc tggactaatgt gtctgcaacc
agtttctgtc ggcagtcgga ttgtatgttttgc
ttgaatccat gtcaatacccttcatgctgg
cagggaaaagc aacagatatgt tggctcgaaac
ctgcaatcac aggaagcagt cggaggctgg
acttgattga tgatcccgcc gttccatgg
gcttagccgc cctcacgcct tggccatgt
taaaaaacaac aaaaagaggg ggcgttttt
aaggagacac cactacagga gtctaccgaa
aggctggcgt cgaggatcatgt tacgagaatgt
gggcagccat tatgagtggaa gaaggaaaat
accgcatagc ttacggaggc ccatggagat
tgcaagtgtat cgtggtagaa ccggggagg
tgtttcggac ccccttcggg gaggttgggg
ccggctcacc cattctggat tccatggag
agcttggcga tggctcatac gtcagcgcca
tcccagaagc ttacactcca aacatgttaa
accctggttc agggaaaacc agggaaaattc
agcgccctaag aacagctgtt ttggcaccga
ctttgagagg gctccagta cgataccaaa
4140 tcacatccac tggatggttc tcgcccacca
4200 caaacaagaa gagaggggtgg ccagctactg
4260 ccatcgtagg tggtttggcc gagttggata
4320 caggtcttat ggcagtgtcc tacgtatgt
4380 gggccgcccga catcagctgg gagatggatg
4440 atgtgaaact ggatgtatgac ggagattttc
4500 aagtttgggt ctgcgcatttgc tcttgcatttgc
4560 ttcccgccgc tttcggttac tggctcactt
4620 gggacacgccc atccccgaaa ctttgcttaa
4680 tcatggctag aggatttttgc ggcacctacc
4740 tttccacac actatggcac acaactagag
4800 tgacgccata ctggggtagc gtgaaagaag
4860 ttgatcgaaa atgaaatggaa acagatgacg
4920 ctgcggtaaa catccagaca aaaccaggag
4980 ctgttagcct ggattacccg cgaggaacat
5040 acatcatagg cctatacgcc aatggatgt
5100 tcgtgcaggg tgaccgtcag gaggaaccag
5160 gaaagagaca gatgactgttgc tttagatttgc
5220 tgccacaaat aattaaggat gcaatccagc
5280 cgcggtggt agcagcagaa atggcagaag
5340 cttagcagt gcagagagag caccaaggaa

atgaaatagt ggatgtgatg tgccacgcca
gagtgcccaa ctacaatctg tttgtcatgg
tagccgcacg aggatacatac gctaccaagg
tgacagcgac cccgcctgga accacggatc
atttacaaga tgagatacca gacagggcat
atgcggtaa aaccgtgtgg tttgtggcga
gcctccaaag agcggaaaaa aaggtcatcc
acccaaaatg taagaatgga gactgggatt
gggctaactt cggtgcgagc agggtcatcg
tagaagaggg agaaggcaga gtcattctcg
cagctcaacg gagggcaga gtaggcagaa
atggagggc taccagtcaa gatgacagta
tgttagacaa catacacatg cccaatggc
aaaaggctt cacaatggat ggcgaatacc
tagagctgct taggacggct gacattccgg
gcattcagta caccgacaga aagtggtgtt
aggacaacac cgaggttagag atagtcaccc
gatggcttga tgcaagagta tacgcagatc
cagcagaaaa gagatcgccc gttagctca
tcatggaaaa gacgcggaa gctttagaca
gtgggaaggc acaccgaatg gctctcgaag
5400 ctctgaccca cagattgtatg tcaccgaaca
5460 atgaagctca tttcaccgac ccagccagca
5520 tggaattagg agaggcagca gccatctta
5580 ctttccgaa ctcaaattgc ccaatccatg
5640 ggagcagtgg atacgaatgg atcacagaat
5700 gcgtaaaaat gggaaatgag attgcaatgt
5760 aactcaaccg caagtccatat gacacagaat
5820 ttgtcattac caccgacatc tctgaaatgg
5880 actgcagaaaa gagcgtgaaa cccaccatct
5940 gaaaccatc tccataacc agtgctagcg
6000 accccaacca agtggagat gaataccatt
6060 acctagccca ttggacagag gcaaagatca
6120 tggtgccca gctctatgga ccagagaggg
6180 gtctcagggg tgaagaaaaag aaaaacttct
6240 tgtggctggc ctataaggtg gcgtccaaatg
6300 ttgatggcc ggcacgaat gccatactgg
6360 ggtatgggtga gagaagatc ctcaagccga
6420 accaaggccct caagtggttc aaagactttg
6480 tagaggtgct cggtcgcatg cctgagcatt
6540 ccatgtactt ggtcgcaacg gctgagaaag
6600 agttgcccga tgcactggaa accatcacac

ttattgttgc catcaactgta atgacaggag
gtataggaa gatgggtctt ggagctctag
cggcagaggt tccttgaacc aaaatagcag
tggttctcat cccagaaccg gaaaaacaga
ttctcatctg cgtcttgacc gtggttggag
aaaaaaccaa agcagatctc aagagcatgt
ctggattgcc aagcatggca ctggaccctgc
ggagcacagt tgtgctaacc cctttctga
catcgctagc ctcaattaac tcacaagctg
cttacccga tctagacctg accgttggcc
ccctcacaac gttttgaca gccatggtc
ctggatggca agcagaagca cttagggctg
agaatgccgt tggacgga atggtcgcca
ctctgatgca aaagaaagtc ggacaggtgc
tcgtcaaccc taatgtcacc actgtgagag
tcacccgttggataatgga gccagtgcgc
gccatgtcat gcgaggtagc tacctggctg
acgctgacaa gccctccttg aaaaggggaa
ggaaggaaaa actaaatgcc atgagcagag
taatcgaggt ggaccgcact gaagcacgca
gacatccggt ttgcgaggc tcagcaaaac
6660 gattcttctt actaatgatg cagcgaaagg
6720 tgctcacgct agctacccttc ttccctgtggg
6780 ggaccctgct gatcgccctg ctgctgatgg
6840 ggtcacagac agacaaccaa cttagcggtgt
6900 tggtggcagc aaacgagtac gggatgctag
6960 ttggcggaaa gacacaggca tcaggactga
7020 gtccagccac agcctggca ctgtatgggg
7080 agcacctgat cacgtcgaa tatgtcacca
7140 gtcattatt cgtcttgcca cgaggcgtgc
7200 tcgtcttctt tggctgctgg ggtcaaatca
7260 tggcgacact tcactatggg tacatgctcc
7320 cccagagaag gacggcggct ggaataatga
7380 ctgatgtgcc tgaactggaa aggactactc
7440 tcctcatagg ggtgagcgtg gcagcgttc
7500 aagcaggggt gttggtgacg gcggctacgc
7560 tttggaaattc caccacagcc acgggactct
7620 gaggctctat tgcttggact cttatcaaga
7680 ggcctgggg caggacgcta ggggagcagt
7740 aagagtttt taaataccgg agagaggcca
7800 gggctagacg tgaaaataac atagtggag
7860 tccgttgct cgtggagaaa ggattcgtct

cgccaatagg aaaagtattt gatcttagggt
caaccctgaa gaaggtccag gaagttagag
agccgatgct catgcagagc tacggctgga
tgttctacaa actttcagag cctagtgaca
caagtccaga agtggaaagaa caacgcacac
tgcatcgagg acccagagag ttctgcataa
tagaaaaaaat ggaagttctg cagcgccgct
cccgaaaactc caatcacgag atgtattggg
ctgtgaacat gaccagccag gtactactgg
caaagtatga ggaagatgtc aaccttaggt
ttcatagcaa tcaggagaaa atcaagaaga
caacgtggca caaagaccct gaacacccat
aggtgaaggc tactggctca gccagctctc
aaccttggga cgccattgcc aacgtcacca
gacagcaaag agtttcaag gagaaagtgt
tcaaggaagt gctcaacgag accaccaact
gaccccgctt gtgcaccaag gaagaattta
gagcagtgtt tgctgaacag aatcaatgga
ggttttggga gatggtaat gaagagaggg
gtatctacaa catgtggaa aaaagagaga
ggagcagggc catttggttc atgtggcttg
7920 gtgggcgtgg aggatggagc tactacgcag
7980 gatacacgaa aggtggggcg ggacatgaag
8040 acctggtctc cttaagagt ggagtggatg
8100 ccctgttctg tgacataggg gaatcctccc
8160 tacgcgtcct agagatgaca tccgattggt
8220 aagttctctg cccttacatg cccaaggtca
8280 tcggagggtgg gctagtagt ctccccctgt
8340 ttagtggagc cgctggcaat gtgggcacg
8400 ggcgaatgga tcgcacagtg tggagagggc
8460 gcggaacaag agccgtggga aaggagaag
8520 gaatccagaa gcttaagaa gaattcgcca
8580 accgcacttg gacataaccac ggaagctatg
8640 tcgtcaacgg agtggtaag ctcatgagta
8700 ccatggccat gactgacacc acccctttg
8760 acacgaaagc tcctgagcca ccagctggag
8820 ggctgtgggc ccacttgtca cggaaaaaaa
8880 taaagaaagt caatagcaac gcggctttg
8940 gcacggcgcg tgaggctgtg gacgacccgc
9000 aaaaccatct gcgaggagag tgtcacacat
9060 agaaggctgg agagtttggaa aaagctaaag
9120 gagcacggta tcttgatgtt gaagctttgg

ggttcctgaa tgaagaccac tggctgagcc
caggcgtcca aaagtggga tacatcctcc
tgtacgctga tgacaccgcc gggtgggaca
aagctaagggt gctggagctc ctagatggtg
aactgactta caggcacaaa gtggtcaagg
tcatggacgt gatatcaaga gaagacaaa
tcaacacttt cacgaacatc gctgtccagc
ttggccaca acacttgaa cagctgccta
tcttgagaa tggagaggag agagtgacca
tcaagccgct ggacgacaga ttgccacgg
ttagaaaaga catccaggaa tggaaaggctt
ccttctgctc taaccacttt caggagattg
cgtcagagg acaggatgag ctgataggca
atgtgaagga cacagcttgc ctggcaaaag
tccatcgtag ggacctgcgt ctcatggcaa
gggtgcccac aggaggaca tcctggtaa
aagacatgct gcaggtctgg aacagagtct
agactccgt cacaagctgg acagacgttc
gtggcagcct catcggaacg cgttccagag
taaaccagggt tagagctgtc attggaaag
ggagatacga agacgtcttg atccaggaag
9180 gagagaattc aggaggtgga gtagaaggct
9240 gtgacatagc aggaaagcaa ggagggaaaa
9300 ctagaattac tagaactgat ttagaaaatg
9360 aacaccgcat gctcgcccg gccataattg
9420 tcatgagacc tgcagcagaa ggaaagaccg
9480 gggggagtgg acaggtggc acttatgctc
9540 tcgttaggct gatggaggct gagggggtca
9600 ggaaaaacaa gatagctgtc aggacttggc
9660 gnatggcgat cagcggagac gactgtgtcg
9720 ccctccattt cctcaacgca atgtcaaagg
9780 cgcacggctg gcacgattgg cagcaagttc
9840 tcatgaaaga cggaaggagt atagttgtcc
9900 gggctcgcat ctctccagga gctggatgga
9960 catatgcaca gatgtggcta ctcctatact
10020 atgcgatttg ctcaagcgtg ccagtggatt
10080 tacactcgaa aggagagtgg atgaccacgg
10140 ggattgaaga aaatgaatgg atgatggata
10200 cgtatgtggg aaagcgtgag gacatctgg
10260 caacctggc tgagaacatc tatgcggcga
10320 aaaattatgt tgactacatg acctcactca
10380 acagggtcat ctagtgtgac ttaaggtaga

aatgtaaata atgtgaatga gaaaatgcat	10440 gtatatggag tcaggccagc aaaagctgcc
accggatact gggtagacgg tgctgcctgc	10500 gtctcagtcc caggaggact gggtaacaa
atctgacaac agaaagttag aaagccctca	10560 gaaccgtctc ggaagtaggt ccctgctcac
tggaagttga aagaccaacg tcaggccacg	10620 aatttgcgcc actccgctgg ggagtgcggc
ctgcgcagcc ccaggaggac tgggttacca	10680 aagccgttga ggccccacg gcccaagcct
cgtctaggat gcaatagacg aggtgttaagg	10740 actagaggtt agaggagacc ccgtggaaac
aacaacatgc ggcccaagcc ccctcgaaagc	10800 tgttagaggag gtggaaggac tagaggttag
aggagacccc gcatttgcatt caaacagcat	10860 attgacacctt ggaaatagac tggagatct
tctgctctat ctcaacatca gctactaggc	10920 acagagcgcc gaagtatgtt gctgggttg
aggaagaaca caggatctt agagcggccg	10980 cggaccgact agcctttt cggccttcgc
ttagagggat ttgttcccta ggcctaatta	11040 ttatttttaa ttgccaata cgtatacgag
tgcctttct aatttcgtt tactatagt	11100 agtcgttta tctagccgccc cggccgtcg
accaattctc atgtttgaca gcttatcatc	11160 gaatttctgc cattcatccg cttattatca
cttattcagg cgttagcaacc aggcgtttaa	11220 gggcaccaat aactgcctta aaaaaattac
gccccgccc gccactcatc gcagttactgt	11280 tgtaattcat taagcattct gccgacatgg
aagccatcac aaacggcatg atgaacctga	11340 atcgccagcg gcatcagcac cttgtcgct
tgcgtataat atttgcctt ggtgaaaacg	11400 ggggcgaaga agttgtccat attggccacg
tttaaatcaa aactggtgaa actcacccag	11460 ggattggctg agacgaaaaa catattctca
ataaaaccctt tagggaaata ggccaggtt	11520 tcaccgttac acgccacatc ttgcgaatat
atgtgtagaa actgcccggaa atcgctgtgg	11580 tattcactcc agagcgatga aaacgttca
gttgtcat ggaaaacgggt gtaacaagg	11640 tgaacactat cccatatcac cagctcaccg

tcttcattg ccatacgaa ttccggatga
aaggccggat aaaacttgtg cttatTTTC
agctgaacgg tctggTTATA ggtacattga
ttacgatgcc attgggatAT atcaacggtg
gcttcCTtag ctccTgaaaa tctcgataac
tcattatggT gaaagtTgga acctcttacg
ttggcccagg gcttcccgt atcaacaggg
tcttccgtca caggtattta ttgcgcataa
aaggacagag aaagcgcgga tctggaaGT
ggaggcggTT gccgcccgtg ctgctgacgg
tacgttccgc cattcctatg cgatgcacat
gcaaAGCCTG atggacata agtccatcag
gctggatgtg gctgcccggc accgggtgca
gatgctgaaa caattatcct gagaataaat
gagtggatat gctgttttg tctgttaaac
gaacgaaaca gtcggaaaa tctcccatta
gcctgtgttag cgTTtatagg aagttagtgg
acgatttgaa tatgccttca ggaacaatag
agcggattat gtcagcaatg gacagaacaa
gtcctttac agccagtagt gctgcccga
gcgaggaagc accagggAAC agcacttata
11700 gcattcatca ggcccccaag aatgtgaata
11760 tttacggTct taaaaaggc cgtaatatcc
11820 gcaactgact gaaatgcctc aaaatgttct
11880 gtatatccag tgatTTTT ctccattta
11940 tcaaaaaata cgcccggtag tgatcttatt
12000 tgccgatcaa cgTCTCATT tcGCCAAAG
12060 acaccaggat ttatttattc tgcaagtga
12120 gctcatggag cggcgtAACc gtcgcacagg
12180 gacggacaga acggTCAGGA CCTGGATTGG
12240 tgtgacgttc tctgttccgg tcacaccaca
12300 gctgtatGCC ggtataccgc tgaaagtTCT
12360 ttcaacggaa gtctacacga aggttttgc
12420 gtttgcgatg ccggagtctg atgcggTTGC
12480 gccttggcct ttatatggaa atgtggaact
12540 agagaagctg gctgttatCC actgagaAGC
12600 tcgttagagat ccgcattatt aatctcagga
12660 ctgtcatgat gcctgcaAGC ggtAACGAAA
12720 aaatcttcgt gcggTgttac gttgaagtgg
12780 cctaATGAAC acagaaccat gatgtggTCT
12840 gtcgagcgcAC agggcgaAGC CCTCGAGTGA
12900 tattctgctt acacacgatg CCTGAAAAAA

cttcccttgg ggtttatccac ttatccacgg 12960 ggatatttt ataattatti tttttatagt
tttagatct tcttttttag agcgccttgt 13020 aggcctttat ccatgctgg tctagagaag
gtgttgac aaattgccct ttcagtgtga 13080 caaatcaccc tcaaatgaca gtcctgtctg
tgacaaaattg cccttaaccc tgtgacaaat 13140 tgccctcaga agaagctgtt tttcacaaa
gttatccctg cttattgact ctttttatt 13200 tagtgtgaca atctaaaaac ttgtcacact
tcacatggat ctgtcatggc ggaaacagcg 13260 gttatcaatc acaagaaaacg taaaaatagc
ccgcgaatcg tccagtcaaa cgacctact 13320 gaggcggcat atagtctctc ccggatcaa
aacgtatgc tgtatctgtt cgttgaccag 13380 atcagaaaaat ctgatggcac cctacagggaa
catgacggta tctgcgagat ccatgttgct 13440 aaatatgctg aaatatcg attgacctct
gcggaagcca gtaaggatat acggcaggca 13500 ttgaagagtt tcgcgggaa ggaagtggtt
tttatcgcc ctgaagagga tgccggcgat 13560 gaaaaaggct atgaatcttt tccttggttt
atcaaacgtg cgcacagtcc atccagaggg 13620 ctttacagt tacatatcaa cccatatctc
attcccttct ttatcggtt acagaaccgg 13680 tttacgcagt ttccggcttag tgaaacaaaa
gaaatcacca atccgtatgc catgcgtta 13740 tacgaatccc tgtgtcagta tcgtaagccg
gatggctcag gcatcgctc tctgaaaatc 13800 gactggatca tagagcgtta ccagctgcct
caaagttacc agcgtatgcc tgacttccgc 13860 cgccgcttcc tgcaggctg tgttaatgag
atcaacagca gaactccaat gcgcctctca 13920 tacattgaga aaaagaaaagg ccgcccagacg
actcatatcg tatttcctt ccgcgatatac 13980 acttccatga cgacaggata gtctgagggt
tatctgtcac agatttgagg gtggttcgac 14040 acatttttc tgacctactg aggtaattt
gtcacagtt tgctgtttcc ttcaagcctgc 14100 atggatttc tcatacttt tgaactgtaa
tttttaagga agccaaattt gagggcagtt 14160 tgtcacagtt gatttccttc tctttccctt

cgtcatgtga cctgatatacg ggggttagtt 14220 cgtcatcatt gatgagggtt gattatcaca
gttattact ctgaattggc tatccgcgtg 14280 tgtacctcta cctggagttt ttcccacggt
ggatatttct tcttcgcgtg agcgtaaagag 14340 ctatctgaca gaacagttct tctttgcttc
ctcgccagtt cgctcgctat gctcggttac 14400 acggctgcgg cgagcgctag tgataataag
tgactgaggt atgtgctttt ctatctcct 14460 tttgttagtgt tgctcttatt ttaaacaact
ttgcggtttt ttgatgactt tgcgattttg 14520 ttgttgcttt gcagtaaatt gcaagattta
ataaaaaaac gcaaagcaat gattaaagga 14580 tggtcagaat gaaactcatg gaaacactta
accagtgcattt aaacgctggt catgaaatga 14640 cgaaggctat cgccattgca cagttaatg
atgacagcccc ggaagcgagg aaaataaccc 14700 ggccgtggag aataggtgaa gcagcggatt
tagttgggtt ttcttctcag gctatcagag 14760 atgccgagaa agcagggcga ctaccgcacc
cgatatgga aattcgagga cgggttggc 14820 aacgtgttgg ttatacaatt gaacaaatta
atcatatgcg tcatgtgtttt ggtacgcgt 14880 tgcgacgtgc tgaagacgta tttccaccgg
tgatcggtt tgctgccat aaaggtggcg 14940 tttacaacac ctcagttct gttcatcttgc
ctcaggatct ggctctgaag gggctacgtg 15000 ttttgctcgt ggaaggttaac gaccccccagg
gaacagcctc aatgtatcac ggatgggtac 15060 cagatcttca tattcatgca gaagacactc
tcctgcctt ctatcttggg gaaaaggacg 15120 atgtcactta tgcaataaaag cccacttgct
ggccggggct tgacattatt ctttcctgtc 15180 tggctctgca ccgtattgaa actgagttaa
tggcaaaatt tcatgtgggaaactgcca 15240 ccgatccaca cctgatgctc cgactggcca
ttgaaactgt tgctcatgac tatgtatgtca 15300 tagttattga cagcgcgcct aacctggta
tcggcacgtat taatgtcgta tgtgctgctg 15360 atgtgctgat tggccacg cctgctgagt
tggacta caccccgca ctgcagttt 15420 tcgatatacgctc tcaagaacg

ttgatcttaa agggttcgag cctgatgtac 15480 gtatttgct taccaaatac agcaataga
atggctctca gtcccccgtgg atggaggagc 15540 aaattcgaaa tgcctggga agcatggttc
taaaaaatgt tgtacgtgaa acggatgaag 15600 ttggtaaagg tcagatccgg atgagaactg
ttttgaaca ggccattgtat caacgctctt 15660 caactggtgc ctggagaaat gctctttcta
tttggaaacc tgtctgcaat gaaatttcg 15720 atcgtctgat taaaccacgc tggagatta
gataatgaag cgtgcgcctg ttattccaaa 15780 acatacgctc aatactcaac cggttgaaga
tacttcgtta tcgacaccag ctgccccgat 15840 ggtggattcg ttaattgcgc gcgttaggagt
aatggctcgc ggtaatgccat ttactttgcc 15900 tgtatgtggt cggatgtga agtttactct
tgaagtgctc cgggtgata gtgttgagaa 15960 gacctctcggt gatggtcag gtaatgaacg
tgaccaggag ctgcttactg aggacgcact 16020 ggatgatctc atcccttctt ttctactgac
tgttcaacag acaccggcgt tcggtcgaag 16080 agtatctggt gtcatagaaa ttgccatgg
gagtccgcgt cgtaaagctg ctgcacttac 16140 cgaaagtgat tatcgtgttc tggttggcga
gctggatgat gagcagatgg ctgcattatc 16200 cagattgggt aacgattatc gcccaacaag
tgcttatgaa cgtggtcagc gttatgcaag 16260 ccgattgcag aatgaatttgc gttggaaatat
ttctgcgtcg gctgatgcgg aaaatatttc 16320 acgtaaagatt attaccgct gatcaacac
cgccaaatttgc cctaaatcag ttgttgctct 16380 ttttctcac cccggtaac tatctgcccgg
gtcaggtgat gcacttcaaa aagccttac 16440 agataaagag gaattactta agcagcaggc
atctaaccctt catgagcaga aaaaagctgg 16500 ggtgatattttaa gaagctgaag aagttatcac
tcttttaact tctgtgtttaa aaacgtcatc 16560 tgcatcaaga actagttaa gctcacgaca
tcagtttgct cctggagcga cagtattgtat 16620 taagggcgat aaaatggtgc ttaacctggaa
caggtctcggt gttccaaactg agtgtataga 16680 gaaaatttgc gccattctta aggaacttga

aaagccagca ccctgatgcg accacgttt
ccttgttac aggccagaaa gcataactgg
acttgtatcg tcggctcgat aatcagactg
gattattagt ctgggaccac ggtcccactc
cacggtccca ctcgtatcgt cggtctgata
cgtcggtctg attattagtc tgggaccatg
gtctgggacc acggtcccac tcgtatcgtc
cactcgtatc gtcggtctga ttattagtc
tgattattag tctgggacca cgatcccact
ccacggtccc acttgtattg tcgatcagac
cctgtcaagg gcaagtattg acatgtcgtc
gcggttgtat gcctgctgtg gattgctgct
cggttatgtg gacaaaatac ctggttaccc
tccgatgcaa gtgttcgct gtcgacgagc
ttcagtgtcg ctgatttgc ttgtctgaag
ttaatacgat acctgcgtca taattgatta
ttgtgatatg tagatgataa tcattatcac
ttacggggcg gcgacctcgc gggtttcgc
ttccgttctt cttcgatcata acttaatgtt
aaacgacagg tgctgaaagc gagcttttg
ccgtggaatg aacaatggaa gtccgagctc
16740 agtctacgtt tatctgtctt tacttaatgt
16800 cctgaatatt ctctctggc ccactgttcc
16860 ggaccacggt cccactcgta tcgtcggtct
16920 gtatcgtcgg tctgattatt agtctggac
16980 atcagactgg gaccacggc ccactcgat
17040 gtcccactcg tatcgtcggt ctgattatta
17100 ggtctgatta ttagtctgga accacggcc
17160 gggaccacgg tcccaactcgt atcgtcggc
17220 cgtttgtcg gtctgattat cggtctggga
17280 tatcagcgtg agactacgat tccatcaatg
17340 gtaaccgtta gaacggagta acctcggtgt
17400 gtgtcctgct tatccacaac atttgcgca
17460 aggccgtgcc ggcacgttaa ccgggctgca
17520 tcgcgagctc ggacatgagg ttgccccgt
17580 ttgttttac gttaagttga tgcagatcaa
17640 tttgacgtgg tttgatggcc tccacgcacg
17700 tttacgggtc cttccggtg atccgacagg
17760 tatttatgaa aattttccgg tttaaaggcgt
17820 tttatttaaa ataccctctg aaaagaaagg
17880 gcctctgtcg tttcctttct ctgttttgt
17940 atcgctaata acttcgtata gcatacatta

tacgaagtta tattcgatgc ggcgctgagg 18000 tctgcctcgt gaagaaggtg ttgctgact
ataccaggcc tgaatcgccc catcatccag 18060 ccagaaagtg agggagccac gggttatgag
agcttttgtt taggtggacc agttgggtat 18120 tttaacttt tgcttgcca cggAACGGTC
tgcgttgtcg ggaagatgcg tgcgtgtatc 18180 cttcaactca gcaaaagttc gatTTATTCA
acaagccac gtgtctaaa atctctgtat 18240 ttacattgca caagataaaa atatatcatc
atgaacaata aaactgtctg cttacataaa 18300 cagtaataca aggggtgtt tgagccatat
tcaacggaa acgtcttgct cgacgatgat 18360 aagctgtcaa acatgagaat tgggtcgta
atatgctaaa acgcggcata ccccgctat 18420 tcccactagt taatcgtagc aattccgtat
ggcaatgaaa gacggtgagc tggtgatatg 18480 ggatagtgtt cacccttggt acaccgtttt
ccatgagcaa actgaaacgt tttcatcgct 18540 ctggagtgaa taccacgacg atttccggca
gtttctacac atatattcgc aagatgtggc 18600 gtgttacggt gaaaacctgg cctatttccc
taaagggttt attgagaata tggggcgt 18660 ctcagccaat ccctgggtga gtttaccagg
tttgattta aacgtggcca atatggacaa 18720 cttcttcgcc cccgtttca ccatggcaaa
atattatacg caaggcgaca aggtgctgat 18780 gccgctggcg attcaggttc atcatgccgt
ttgtgatggc ttccatgtcg gcagaatgct 18840 taatgaatta caacagtact gcgtgagtg
gcagggcggg gcgtaattt tttaaggcag 18900 ttattggtgc ctttaaacgc ctgggtgcta
cgccctgaata agtgataata agcggatgaa 18960 tggcagaaat tcgatgataa gctgtcaaac
atgagaattt gtcgacggcc cggcggtcta 19020 gataatacga ctcactataag
19040

【서지사항】

【서류명】 명세서 등 보정서

【수신처】 특허청장

【제출일자】 2002.12.31

【제출인】

【성명】 이영민

【출원인코드】 4-2002-037468-5

【사건과의 관계】 출원인

【대리인】

【성명】 이원희

【대리인코드】 9-1998-000385-9

【포괄위임등록번호】 2002-075574-2

【사건의 표시】

【출원번호】 10-2002-0061589

【출원일자】 2002.10.09

【심사청구일자】 2002.10.09

【발명의 명칭】 일본뇌염 바이러스의 신규한 전체-길이의 게놈 R N A 및 상기 J E V 게놈 R N A에 대한 감염성이 있는 J E V c D N A

【제출원인】

【접수번호】 1-1-02-0331891-89

【접수일자】 2002.10.09

【보정할 서류】 명세서등

【보정할 사항】

【보정대상항목】 별지와 같음

【보정방법】 별지와 같음

【보정내용】 별지와 같음

【취지】 특허법시행규칙 제13조·실용신안법시행규칙 제8조의 규정에 의하여 위와 같이 제출합니다. 대리인
이원희 (인)

020061589

출력 일자: 2003/10/17

【수수료】

【보정료】	5,000 원
【추가심사청구료】	0 원
【기타 수수료】	0 원
【합계】	5,000 원

020061589

출력 일자: 2003/10/17

【보정대상항목】 식별번호 42

【보정방법】 정정

【보정내용】

【표 1】

위치	연도	규주	출처(source)	진뱅크 기타번호
오스트레일리아	1995	FU	인간 혈청	AF217620
중국	1954	SA14	모기	U14163
		SA14-14-2	SA14 유도체	AF315119
		SA14-12-1-7	SA14 유도체	AF416457
		SA14-2-8	SA14 유도체	U15763
		SA(V)	SA14 유도체	D90194
		SA(A)	SA14-14-2 유도체	D90195
		Beijing-1	인간의 뇌	L48961
		P3	모기	U47032
인도	1973	GP78	인간의 뇌	AF075723
	1953	Vellore P20778	인간의 뇌	AF080251
일본	1982	Ja0 ArS982	모기	M18370
	IU	Ishikawa	IU	AB051292
	1959	JaG Ar01	모기	AF069076
한국	1994	K94P05	모기	AF045551
	1987	CNU/LP2	모기	분 발명
대만	1997	T1P1	모기	AF254453
	1994	CH2195LA	CH2195 유도체	AF221499
	1994	CH2195SA	CH2195 유도체	AF221500
	1990	CH1392	모기	AF254452
	1985	RP-2ms	모기	AF014160
	1985	RP-9	모기	AF014161
	1965	Ling	인간의 뇌	L78128
	IU	YL	IU	AF486638
	IU	TC	모기	AF098736
	IU	TL	모기	AF098737
	IU	HVI	모기	AF098735

【보정대상항목】 식별번호 45

【보정방법】 정정

【보정내용】

【표 2】

% 서열 상동성

분리주	P20778																											
	Ishikawa K94P05	FU	CH12185A	CH12185SA	RP-2ms	RP-6	CH1392	TIP1	TC	TL	BRG1	LP2	Vibration	P20778	S4(A)	S4(B)	S4(C)	S4(D)	CNU/LP2	OP78	JOA/S982	WNV						
Ishikawa	97.0	90.1	88.3	88.3	88.9	89.0	89.1	89.1	88.9	89.2	89.0	88.9	88.8	88.8	89.1	88.8	88.9	89.1	89.2	89.2	89.0	88.8	88.9	89.0				
K94P05	97.7	89.6	88.6	88.6	89.2	89.3	89.4	89.4	89.1	89.5	89.2	89.1	89.0	89.0	88.9	89.4	89.1	89.2	89.2	89.3	89.5	89.5	89.4	89.0	89.5			
FU	97.7	97.0	88.8	88.9	89.3	89.4	89.4	89.4	89.2	89.6	89.2	89.1	89.3	89.0	89.1	89.4	89.1	89.2	89.2	89.3	89.6	89.5	89.3	88.7	89.4			
CH2195LA	97.7	97.0	99.9	99.9	98.2	98.3	98.3	98.3	98.1	98.5	98.2	98.5	98.8	95.8	95.7	95.1	96.3	96.6	96.7	96.7	96.8	97.1	95.8	95.7	97.3			
CH2195SA	97.1	98.5	99.0	99.0	98.3	98.3	98.3	98.1	98.5	96.5	96.2	95.9	95.8	95.6	95.7	95.1	96.3	96.6	96.7	96.7	95.9	97.1	95.9	95.7	97.3			
RP-2ms	97.5	96.8	89.4	99.4	98.8	99.9	99.5	99.5	99.3	99.4	98.8	88.2	98.1	97.2	97.1	96.6	97.9	98.0	98.1	98.1	98.3	98.5	98.5	97.1	96.9	97.7		
RP-9	97.6	96.9	99.5	99.5	98.9	99.7	99.6	99.5	99.3	99.5	98.8	98.2	98.2	97.2	97.2	98.7	98.0	98.1	98.1	98.1	98.3	98.5	98.5	97.2	96.9	97.8		
CH1392	97.8	97.2	99.7	99.7	99.1	99.6	99.7	99.9	99.5	99.7	99.0	98.3	99.3	97.3	97.3	96.8	98.2	98.3	98.3	98.4	98.6	98.7	97.3	97.0	97.9			
TIP1	97.5	98.8	99.3	99.3	98.7	99.1	99.2	99.4	99.5	99.7	99.0	98.3	98.3	97.3	97.3	98.6	98.8	98.1	98.2	98.2	98.3	98.4	98.6	98.6	97.3	97.0		
YL	97.4	95.7	89.2	89.2	88.7	89.1	89.2	89.4	89.1	89.4	89.8	89.1	89.0	89.1	89.1	89.5	89.7	89.0	89.2	89.4	89.4	97.0	86.8	97.6	89.2			
JoGAr01	97.1	95.4	88.9	88.9	89.2	88.7	88.3	89.1	88.6	88.7	89.3	89.4	89.4	97.4	97.4	96.9	98.3	98.3	98.4	98.4	98.5	98.8	98.8	97.4	97.1	98.0		
HV	97.2	96.5	89.9	89.9	88.3	88.8	88.3	89.1	89.7	89.8	89.8	88.6	89.4	97.2	97.2	96.7	98.1	98.1	98.1	98.3	98.5	98.5	97.1	96.8	97.7			
TC	97.0	96.4	88.8	88.8	88.2	88.7	88.3	89.0	89.0	89.5	88.2	88.4	89.0	99.0	97.2	97.1	96.4	97.7	97.8	97.9	98.1	98.3	98.3	96.8	96.7	97.4		
TL	97.2	96.8	99.0	99.0	98.4	98.9	98.9	99.2	98.8	98.7	98.4	98.5	99.7	97.0	96.9	96.1	97.5	97.6	97.7	97.7	97.8	98.1	98.1	96.7	98.5	97.2		
Beijing-1	97.3	88.6	89.0	89.0	98.5	98.9	98.9	99.0	99.2	98.8	98.7	98.4	98.6	98.4	98.6	99.2	99.3	99.1	88.7	97.4	97.2	97.2	97.3	97.5	97.6	96.4	98.1	97.0
Ling	97.4	98.7	89.1	89.1	88.6	89.0	89.1	89.3	88.9	89.9	89.6	89.6	89.7	99.0	99.2	99.2	96.7	97.3	97.1	97.2	97.2	97.4	97.6	96.3	96.3	97.2		
Vellore P20778	97.7	97.1	99.5	99.5	98.9	99.4	99.5	99.5	99.7	99.3	99.2	98.9	99.1	99.1	99.2	99.3	99.4	95.8	96.5	96.7	96.7	96.9	97.1	96.0	95.6	96.4	95.5	
p3	97.8	97.1	99.5	99.5	98.8	99.4	99.4	99.7	99.7	99.9	99.3	99.0	99.2	99.2	99.2	99.5	99.8	98.2	98.3	98.3	98.5	98.7	98.7	97.1	97.1	97.8		
SA14-14-2	97.9	97.1	99.5	99.5	98.9	99.3	99.4	99.7	99.2	99.2	99.9	99.0	98.8	99.0	99.1	99.2	99.6	99.6	99.8	99.4	99.4	99.4	97.4	97.3	98.1	98.4	97.4	
SA(A)	97.1	96.6	88.8	88.8	88.2	88.2	88.7	88.8	89.0	88.6	88.5	88.2	88.2	88.3	88.4	88.5	88.6	88.9	88.6	89.4	89.4	89.4	87.5	97.4	98.2	69.4		
SA14-12-1-7	97.2	96.8	89.9	89.9	89.3	89.7	88.9	89.1	89.7	88.8	88.3	88.4	88.2	88.4	88.4	88.5	88.5	88.6	99.4	99.5	99.5	97.5	97.4	98.2	69.4			
SA14-2-8	97.7	97.3	89.4	89.4	88.8	89.3	89.4	89.6	89.2	89.8	88.8	88.9	89.0	89.2	88.5	89.5	89.6	99.7	99.6	99.6	97.7	97.6	98.3	69.5				
SA14	97.5	96.7	89.0	89.0	88.4	88.9	89.0	89.2	88.9	88.8	88.8	88.7	88.4	88.4	88.5	88.6	88.7	99.2	99.2	99.2	98.5	98.5	99.2	69.6				
SA(V)	97.3	96.8	89.9	89.9	89.3	89.7	89.0	89.1	88.7	89.6	88.4	88.5	88.2	88.4	88.5	88.6	88.9	99.0	98.3	98.4	99.0	99.5	97.9	97.8	98.6	69.8		
CNU/LP2	97.4	96.7	88.9	88.9	88.2	88.7	88.8	89.0	88.6	88.5	88.2	88.2	88.4	88.4	88.5	88.6	88.9	88.0	88.4	88.4	88.4	88.6	88.5	88.3	97.1	69.5		
OP78	97.0	98.4	98.6	98.6	88.0	88.0	88.6	88.8	98.5	98.4	98.0	98.1	98.0	98.2	98.3	98.7	98.7	98.7	98.1	98.2	98.2	98.2	97.2	69.6				
JoGArS982	97.6	96.8	97.8	97.2	97.7	97.0	98.0	97.8	97.6	97.2	97.3	97.1	97.3	97.4	97.5	97.5	97.9	98.0	97.0	97.9	97.6	97.4	97.5	97.1	69.8			
WNV	76.2	75.8	76.6	76.6	76.1	76.4	76.5	76.7	76.5	76.5	76.3	76.4	76.1	76.2	76.3	76.4	76.6	76.6	76.7	76.3	76.7	76.6	76.5	76.7	76.7	76.7		

* 완전한 개념의 % 뉴클레오타이드 서열 상동성은 오른쪽 위에 나타내었다. 완전한 개념의 % 아미노산 상동성은 왼쪽 아래에 나타내었다.
 CNU/LP2와의 % 서열 상동성은 짙은 글씨로 나타내었다.

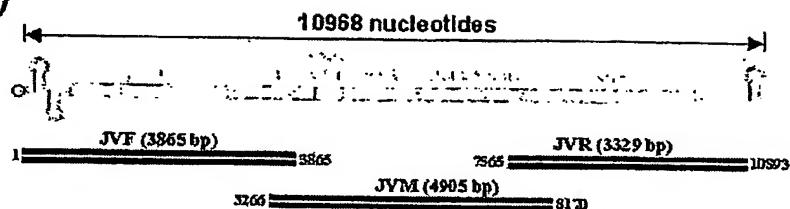
【보정대상항목】 도 2

【보정방법】 정정

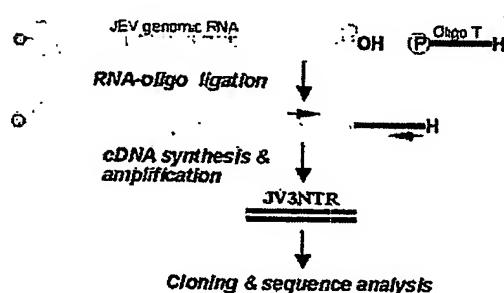
【보정내용】

【도 2】

(A)



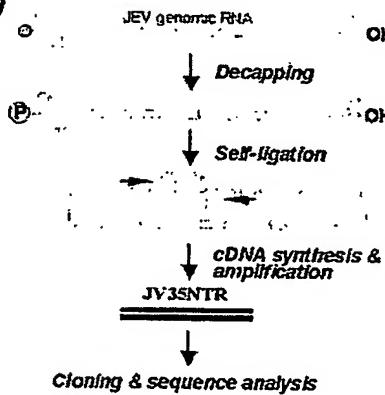
(B)



(C)



(D)



(E)



BEST AVAILABLE COPY